

THESIS

TÜBINGEN

1967

Aus dem Zahnärztlichen Institut der Universität Tübingen

Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Fröhlich

Experimentelle Untersuchungen
über den Einfluß der
Epsilon-Aminocaprinsäure auf die
fibrinolytische Aktivität
des menschlichen Speichels

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Walahfrid Gloker
aus Friedrichshafen

1967

9081

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Zahnärztlichen Institut der Universität Tübingen

Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Fröhlich

**Experimentelle Untersuchungen
über den Einfluß der
Epsilon-Aminocaprinsäure auf die
fibrinolytische Aktivität
des menschlichen Speichels**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnmedizin
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Walahfrid Gloker
aus Friedrichshafen

1967

Dekan:

Professor Dr. F. Lembeck

1. Berichterstatter: Dozent Dr. W. Schulte

2. Berichterstatter: Professor Dr. Dr. E. Fröhlich

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung und Problemstellung

II. Eigene Untersuchungen

1. Methoden

2. Material und Technik

- a) Herstellung der Fibrinplatten
- b) Reagentien
- c) Speichelgewinnung und Beimpfung der Platten
- d) Auswertung der Fibrinplatten

3. Versuche und Ergebnisse

Versuchsreihe 1: Speichel und EACS von 25 Personen

Versuchsreihe 2: Einfluß der Inkubationszeit Speichel-EACS

Versuchsreihe 3: Vergleichende Verdünnungsreihe EACS-
Trasylol

Versuchsreihe 4: EACS-Konzentrationsreihen bei 15 Per-
sonen

Versuchsreihe 5: Kontrollversuch bei einer Person

III. Zusammenstellung und Diskussion der Ergebnisse

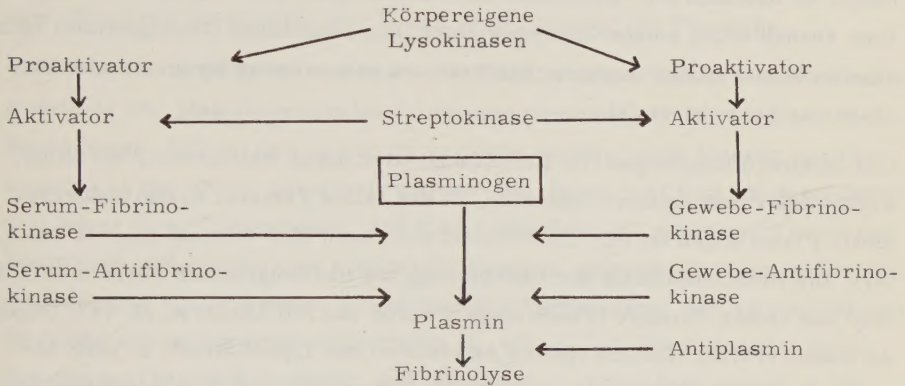
IV. Zusammenfassung

V. Literaturverzeichnis

Lebenslauf

I. Einleitung und Problemstellung

In jüngerer Zeit ist die Fibrinolyse als "4. Phase der Gerinnung" Gegenstand intensiver Forschung (14). Einer kurzen Übersicht über das fibrinolytische System mit seinen Aktivatoren und Inhibitoren möge das folgende Schema dienen.



Schema Nr. 1

Das fibrinolytische System mit seinen Aktivatoren und Inhibitoren. (In Anlehnung an J. JÜRGENS und F.K. BELLER (19), sowie N. HEIMBURGER (18)).

Bei der Fibrinolyse handelt es sich um einen komplexen fermentativ gesteuerten Vorgang, der darauf ausgerichtet ist, das Fibringerinnsel zu beseitigen (19). Dieser Vorgang besitzt nach T. ASTRUP (4) wichtige Beziehungen zur Wundheilung, insofern, als das Fibrin, "das physiologische Substrat der Wundheilung", in seinem Verlauf z.B. bei der Organisation, wieder entfernt werden muß. Da es als Vehikel für die Zelleinsprossung dient, muß die Beseitigung mit dieser koordiniert sein. Diese Beseitigung kann nach ASTRUP auf verschiedene Weise geschehen:

- Durch proteolytische Enzyme des Kathepsintyps aus den toten Zellen.
- Durch Proteasen der Leukozyten. Sie sind im allgemeinen von größerer Bedeutung, vor allem in infizierten Wunden, wo sie sich, aufgrund der Chemotaxis toxischer Produkte, besonders zahlreich einstellen.
- Bei aseptischen Verletzungen spielt das fibrinolytische System die bedeutendste Rolle, in diesem wiederum das fibrinolytische Ferment Plasmin. Es

kommt im Blut in seiner inaktiven Vorstufe, dem Plasminogen, vor. Das Gleichgewicht zwischen Fibrinbildung und Fibrinolyse ist dynamisch. Die beteiligten aktiven Komponenten Thrombin bzw. Plasmin werden aus Vorstadien im Blutplasma gebildet. Die wirksame Konzentration des aktiven Stoffes (Thrombin bzw. Plasmin), die von der Geschwindigkeit der Fibrinbildung bzw. Fibrinolyse abhängt, ist demnach die "Resultante aktivierender und hemmender Prozesse". Eine Verschiebung dieses Gleichgewichtes (hämostatisches Gleichgewicht) kann einerseits eine hämorrhagische Diathese und andererseits thrombotische Prozesse zur Folge haben (4).

Das inaktive Plasminogen (im Blutplasma) wird durch Aktivatoren, die selbst wieder aus Proaktivatoren entstehen, in das aktive Ferment Plasmin übergeführt. Plasminogen ist ein Lipo-Proteid mit einem Mol-Gewicht von 141 000 (47). Die Reaktionskinetik der Überführung des fibrinolytischen Fermentes (Plasmin) aus seiner Vorstufe (Plasminogen) wurde von SHULMAN et. al. (47) folgendermaßen erklärt. Danach spalten Aktivatoren den Lipoid-Anteil ab oder zerstören ihn und überführen damit die inaktive Fermentvorstufe in das aktive Ferment Plasmin. Das Mol-Gewicht des Plasmins ist demzufolge geringer und wird mit 107 000 angegeben (47). Plasmin baut als proteolytisches Ferment sowohl Fibrin als auch Fibrinogen durch Spaltung von Peptidbindungen, die Lysin enthalten, zu großmolekularen Polypeptiden ab, die ihrerseits wieder eine hemmende Wirkung auf die ersten Phasen der Gerinnung ausüben (13).

Den aktivierenden Faktoren stehen Inhibitoren (im Blut Antiplasmin, daneben vermutet man auch Aktivatorinhibitoren) gegenüber (13).

Die Proaktivatoren kommen im Blut, in verschiedenen Körperflüssigkeiten und auch im Gewebe vor. (Die Gewebsproaktivatoren sind mehr lokal wirksam.) Auch im Speichel sind, wie verschiedene Autoren (2, 9, 10, 11, 42, 43) nachweisen konnten, Proaktivator und Aktivator vorhanden. Die Überführung des Proaktivators in den Aktivator erfolgt durch körpereigene Lysokinasen, sowie Bakteriokinasen (Streptokokken und Staphylokokken).

Das Fibringerüst des Gerinnsels ist, wie schon erwähnt, das Substrat, an dem das Plasmin angreift. Nach T. ASTRUP (5), S. SHERRY und D. KLINE (46) ist der Profermentgehalt (ASTRUP) oder Aktivatorgehalt (SHERRY und KLINE) am Substrat, dem Gerinnsel, relativ höher. (Die unterschiedlichen Auffassungen

ASTRUP's und KLINE's sind wohl mehr eine Nomenklaturfrage (7).) So wirkt sich die Fermentaktivität am Thrombus stärker aus, zumal dieser inhibitorfrei ist (7).

Im Blute überwiegen nach S. SHERRY et. al. (46) die Inhibitoren des Plasmins, und zwar verhält sich Antiplasmin zu Plasmin (mindestens) wie 2 : 1. Eine fibrinolytische Aktivität in der Blutbahn muß demnach verbunden sein: a) mit einem Abfall der Inhibitoren oder b) mit einem Anstieg des Plasmins.

Versuche von S. SHERRY und N. ALKJAERSIG zeigten, daß es außerordentlich schwierig ist, plasminogenfreies Fibrinogen herzustellen. Dem entspricht die Beobachtung, daß bei der Gerinnung verhältnismäßig große Mengen von Plasminogen an das Fibrin adsorbiert werden (20). Schon MACFARLANE und BIGGS (23) haben darauf hingewiesen, daß Fibrin fibrinolytisch wirksame Fraktionen adsorbiere (sie würden eine erschwerte Reaktion zwischen Ferment und Inhibitor bedingen), und schließlich konnte nachgewiesen werden, daß Aktivatoren und Streptokinase in Gerinnsel diffundieren (5, 46). Es ist daher eine von vielen Autoren anerkannte Konzeption, daß infundierte Streptokinase zuerst in den Thrombus diffundiert und den am Thrombus befindlichen hohen Proaktivatorgehalt (ASTRUP) bzw. den hohen Plasminogengehalt (KLINE und SHERRY) als Substrat zur Verfügung hat (5, 7, 46). Es kommt zu einer Auflösung von innen nach außen. Im Thrombus selbst ist inhibitorfreies Milieu (intrinsic mechanism)(7).

In der Blutbahn ist es eine Frage der Dosierung, ob der Inhibitor überspielt wird und es neben einer lokalen Thrombolyse auch zu einer allgemeinen Fibrinolyse kommt. Es läßt sich zeigen, daß, wenn die Fibrinolyse durch die Epsilon-Aminocapronsäure unterbunden wird, dennoch die Thrombolyse fortschreitet, d. h. eine Thrombolyse setzt nicht unbedingt eine Fibrinolyse im Gesamtblut voraus (1, 7). Umgekehrt läßt aber eine Fibrinolyse nicht unbedingt auf eine Thrombolyse schließen (7, 45). Entscheidend scheint zu sein, ob die Plasminaktivität in das inhibitorfreie Gebiet des Thrombus vorzudringen vermag.

Im weiteren Verlauf sollen vor allem die Möglichkeiten einer Hemmung des fibrinolytischen Potentials erörtert werden.

Unter OKAMATO (32) wurde ab 1948 intensiv nach einer synthetischen Antiplasmin-Substanz mit hoher Wirkungsrate gesucht. 1952 wurde die Epsilon-Aminocapronsäure als ein Inhibitor des Plasmins erkannt, der in einer Konzentration

von 10^{-5} mol noch wirksam ist. Chemisch handelt es sich um eine einfache Aminosäure ($\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$), die im menschlichen Organismus nicht vorkommt, aber strukturell körpereigenen Aminosäuren ähnlich ist (31). Die wesentliche und zugleich klinisch bedeutungsvolle pharmakologische Wirkung der Epsilon-Aminocaprönsäure (EACS) besteht darin, die Aktivierung proteolytischer Vorgänge zu hemmen. Experimentell läßt sich nachweisen, daß EACS die Aktivierung von Plasminogen zu Plasmin hemmt. Diese Hemmung erfolgt kompetitiv (3). Da Plasmin Fibrin angreift, und zwar umso leichter, je frischer das Fibrin ist, kommt eine Aktivierungshemmung dieses Mechanismus einer Verminderung der Fibrinolyse gleich. Daneben übt EACS auch eine direkte Inhibierung der Plasminwirkung aus, welche dosisabhängig ist (3).

Die gute allgemeine Verträglichkeit des EACS gestattet eine i. v. und orale Applikation (26, 27, 29, 34, 36). Die EACS wird nach i. v.-Verabreichung rasch wieder im Urin ausgeschieden. Die i. v.-Gabe von 10 g EACS bewirkte nach 15 Minuten einen Plasmaspiegel von 150 mg%, nach 30 Minuten 51 mg%. Nach 3 1/2 Stunden sind 82 % ausgeschieden (26, 30). Bei oraler Aufnahme wird EACS rasch und fast vollständig vom Magen-Darmtrakt resorbiert (26). Der maximale Wirkstoffspiegel im Plasma war nach ca. 2 Stunden erreicht.

Bei einmaliger oraler Gabe von 10 g EACS betrug die höchste Wirkstoffkonzentration im oben angegebenen Zeitraum 33 mg%, nach 4 Stunden ist diese auf etwa 16 mg% gesunken. Die wirksame Plasmakonzentration von ca. 13 mg% bleibt etwa 4-6 Stunden erhalten (12).

Wegen der raschen Elimination bei i. v.-Gabe im Vergleich zur oralen Verabfolgung sollte die EACS nach Möglichkeit in kürzeren Zeitabständen i. v. injiziert werden oder besser in Form einer Dauertropinfusion bzw. in regelmäßigen Abständen per os zugeführt werden. Stündliche Dosen von 1-2 g EACS erhalten den wirksamen Plasmaspiegel aufrecht (12).

Eine Reihe von Autoren (6, 33, 48, 61) haben auch eine antiallergische Wirkung des EACS beobachtet. Der Mechanismus dieser Reaktion ließ sich als Hemmung der Aktivierung von α -Chymotrypsinogen zu Chymotrypsin ermitteln (6, 33). Chymotrypsin seinerseits ist an der Histaminfreisetzung beteiligt (35). Die Histaminwirkung selbst wird durch die EACS nicht eingeschränkt (12).

Auch hormonelle Zusammenhänge sind bei der Aktivierung und Inaktivierung des fibrinolytischen Potentials zu beachten. So hemmen ACTH- und Cortison-Präparate die gesteigerte Fibrinolyse durch Erhöhung der Antiplasminaktivität (51), während Desoxycortikosteron-Azetat (DOKA), das somatotrope Hormon (STH) und das thyreotrope Hormon (52) durch Hemmung der Antiplasminaktivität sie fördern. Weiterhin wirken eine Reihe anderer Faktoren, wie Zelläsionen, Strukturänderungen der Zelloberfläche, Tonusverschiebungen im vegetativen Zellsteuerungsprinzip, Entgleisungen des Stoffwechsels, mitunter auch eine erhöhte Kinase- (oder Lysokinase) Abgabe, fibrinolytisch (49).

UNGAR berichtete 1952 von der Fibrinolyse sogar als Kausalfaktor des Entzündungsgeschehens, wobei aber wahrscheinlich auch andere proteolytische Fermente wie Leukoproteasen und Zellkathepsin beteiligt sind (52, 53). Auch pyogene Staphylo- und Streptokokken, die zu den häufigsten Eiter- und Entzündungserregern gehören, besitzen, neben einer Reihe anderer Pathogenitätsfaktoren, die Fähigkeit, Fibrin zur Auflösung zu bringen.

Über die Mitwirkung der fibrinolytischen Enzyme (Staphylo- und Streptokinase) bei der Pathogenese entzündlicher Prozesse bestehen auch heute noch verschiedene Meinungen (31). Neuerdings sieht man Streptokinasebildung als das Pathogenitätsmerkmal an (59). Das Vermögen menschliches Fibrin aufzulösen, findet sich hauptsächlich bei den Streptokokken der Gruppe A, C und G (44).

Unlängst haben Untersuchungen ergeben (49), daß reine Streptokinase in vitro durch die EACS inaktiviert werden kann. Die Versuche haben gezeigt, daß durch Zusatz von EACS zum Nährboden das fibrinolytische Vermögen lebender Staphylo- und Streptokokken aufhebbar ist, während die Gelatinase, als unspezifisches proteolytisches Enzym, unbeeinflußt bleibt. Die Inhibierung erfolgte durch Konzentrationen des Mittels, die auch in vivo erreichbar sind (31).

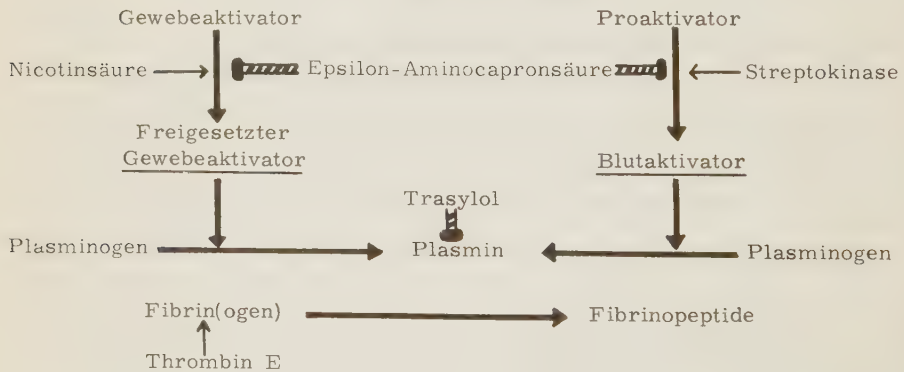
Auch andere Verbindungen und Präparate können die Wirkung von Staphylokokken aufheben. Dazu gehören Trypsinhemmer wie Eialbumin und die aus dem Pankreas gewonnenen Inhibitoren der Sojabohne (dieser kommt vorläufig wegen seiner antigenen und gerinnungshemmenden Wirkung für therapeutische Belange nicht in Betracht (7)) und der Kallikrein Inhibitor "Trasylo". Th. HALSE (17) hat in diesem Sinne auch auf die engen Beziehungen der Blutlipide zum fibrinolytischen Potential hingewiesen. So konnten KWAAN und Mc. FADZEAN (22)

zeigen, daß durch Cholesterinfütterung die Auflösungsgeschwindigkeit bzw. Rekanalisation von artifiziellen Thromben gehemmt werden kann. Von anderer Seite ist eine Abschwächung der Fibrinolyse im Blut bzw. eine erhöhte antifibrinolytische Aktivität nach Einnahme von Butter gefunden worden (8, 15).

KOMMERELL und BERGER (21) fanden nach Butterbelastung einen signifikanten Anstieg des Antifibrinolysins im Blut, während ein solcher nach Sonnenblumenöl nicht zu beachten war.

Wir wollen uns aber darauf beschränken, den Einfluß der beiden, heute am häufigsten therapeutisch angewandten Fibrinolyse-Hemmstoffe, die EACS und den Kallikrein-Inaktivator "TrasyloI" auf die Fibrinolyse zu erörtern. Als Übersicht über die verschiedenen Angriffspunkte dieser Hemmstoffe möge nachfolgendes Schema, "Fibrinolytische Systeme", in Anlehnung an D. VOSS (55) dienen.

Fibrinolytische Systeme



Schema Nr. 2
In Anlehnung an D. VOSS (55)

Während die EACS hauptsächlich in den Aktivierungsmechanismus der Fibrinolyse hemmend eingreift (3, 55), greift das TrasyloI vorwiegend an der Umwandlung von Plasminogen in Plasmin und am Plasmin selbst an (25, 50, 55).

D. VOSS hat die Hemmung der fibrinolytischen Wirkung verschiedener Thrombinpräparate durch die EACS untersucht und entsprechend dem Hauptangriffs-

punkt der EACS nur eine partielle Hemmung festgestellt (Hemmung der Aktivatoraktivität). Er berichtete weiter, daß bei höheren Dosen an EACS die Hemmung nicht gesteigert werden konnte, sondern eher eine fördernde Wirkung auftrat. Das Phänomen der Fibrinolyse-Förderung durch hohe Konzentrationen an EACS ist schon von MARX (24) beschrieben worden. Über den Mechanismus dieser Erscheinung läßt sich nur sagen, daß dieser fördernde Effekt wahrscheinlich mit der direkt am Fibrin angreifenden Thrombinaktivität zu tun hat (55). Durch den Kallikrein-Inaktivator Trasylol konnte D. VOSS in parallel laufenden Versuchen die fibrinolytische Wirkung der untersuchten Thrombinpräparate komplett hemmen (55).

Die Bedeutung, die die Kenntnis dieser Mechanismen für die intraorale Chirurgie hat, ist erst in letzter Zeit Gegenstand der Forschung gewesen. Die Beziehung des Speichels zur Blutgerinnung hat vor allem in den deutschsprachigen zahnärztlichen und kieferchirurgischen Schriften wenig Beachtung gefunden (37). Zumeist wurde dem Speichel dagegen eine ursächliche Rolle für die Heilungsstörung von intraoralen Knochendefektwunden durch seine mechanische Spülwirkung und als Vehikulum für die Keime und deren Einschwemmung zugesprochen (16). Dem Vorgang der Infektion wird also die ursächliche Bedeutung beim Zustandekommen einer Wundheilungsstörung beigemessen. Als Infektionsquelle werden das kranke periapikale-, das marginale Gewebe und die Mundhöhle selbst angesehen.

SCHULTE (37) hat in einem Schema den Ablauf der Blutgerinnung und die Beziehung zum Speichel in Anlehnung an J. JÜRGENS und F.K. BELLER (19) dargestellt. Dabei ergibt sich eine Parallelität zu dem bluteigenen Gerinnungsmechanismus in der Vorphase, der 1. und der 2. Phase.

Nach SCHULTE (37) kommt es immer wieder zu intraoralen Heilungsstörungen mit Verlust des Blutgerinnsels ohne die anfänglich typischen Zeichen einer Infektion. Zum andern kann man bei Patienten mit verschiedenen hämorrhagischen Diathesen feststellen, daß nach chirurgischen Eingriffen in der Mundhöhle Nachblutungen auftreten, während die Blutungszeiten im Bereich der äußeren Haut normal sind. SCHULTE (37) ist aus diesen Gründen der Auffassung, daß wichtige Beziehungen zwischen dem Speichel und der Fibrinolyse bestehen. Diese stellen sich wie folgt dar:

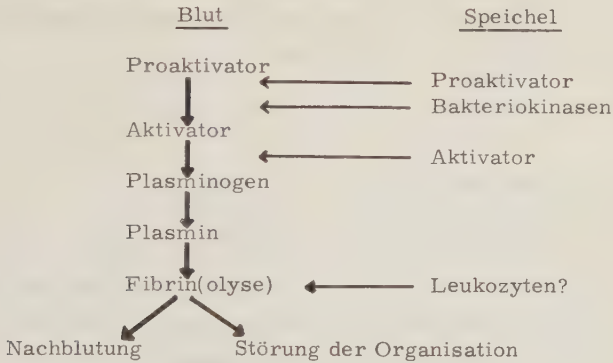
1930 haben R. E. WILLSTÄTTER u. M. (58) im Speichel und in den Speicheldrüsen des Menschen und verschiedener Tiere Proteasen nachgewiesen. 1931 hat O. VOSS (56) über eine trypsinähnliche Protease berichtet. J. WEINMANN u. M. (57) konnten wenig später zeigen, daß Speichel Fibrin abbaut und außerdem ein autolysierendes proteolytisches Ferment enthält. Die Autoren nehmen an, daß die Protease von den Zellen im Speichel, nicht aber von den Bakterien stammt. 1954 haben H. H. CHAUNCEY u. M. (9) erstmalig darauf hingewiesen, daß der Speichel ein inaktives proteolytisches Ferment enthält, das dem Plasminogen ähnlich ist. 1955 haben O. K. ALBRECHTSEN und J. H. THAYSEN (2) diese Ergebnisse bestätigt. Sie fanden im Parotisspeichel und im gemischten Speichel kleine Mengen eines Plasminogen-Aktivators und große Mengen eines Plasminogen-Proaktivators, dagegen kein aktives Plasmin. A. GEWALT (14) konnte diese Ergebnisse bestätigen. J. VORBAUER (54) fand, daß in einem nicht aktivierten Blut-Speichelgemisch die Inhibitoren des Blutes den Plasminogen-Aktivator des Speichels zu hemmen vermögen. Bei einem aktivierten Blut-Speichelgemisch dagegen ist die fibrinolytische Aktivität größer als die des Blutes und des aktivierten Speichels allein. Diese Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß der Speichel unter bestimmten Umständen in der Lage ist, zu einem vorzeitigen Abbau eines Blutgerinnsels in der Mundhöhle beizutragen.

Ein vorzeitiger Abbau des Fibrins führt, ebenso wie ein verzögerter Abbau, zu Wundheilungsstörungen. Für die intraorale Chirurgie ist der vorzeitige Abbau von größerem Interesse, weil er, mit der Auflösung des Blutkoagulums, entweder zu einer Nachblutung oder zu einer Störung der primären per organisationem ablaufenden Wundheilung führen kann.

Da das fibrinolytische System sich normalerweise in einem dynamischen Gleichgewicht befindet (ASTRUP), das von Aktivatoren und Inhibitoren aufrechterhalten wird, ist es verständlich, daß der Normalablauf der Fibrinolyse in Richtung eines vorzeitigen Fibrinabbaus führen muß, wenn am "Orte des Geschehens z. B. durch die Anwesenheit des Speichels die Aktivatoren des Plasminogens vermehrt auftreten".

Aus dem nachstehenden Schema in Anlehnung an W. SCHULTE ist ersichtlich, daß sich eine örtliche Verschiebung des fibrinolytischen Potentials besonders bei intraoralen Wunden bei Patienten mit hämorrhagischer Diathese bemerkbar

machen muß. Sie sollte unter allen Umständen bei den Koagulopathien, die eine qualitativ oder quantitativ unzureichende Fibrinbildung zur Folge haben, vermieden werden.



Schema Nr. 3
Fibrinolytisches Potential einer intraoralen Wunde
(In Anlehnung an W. SCHULTE (38))

Zur Therapie und Prophylaxe von Blutungen und Nachblutungen bei der zahnärztlich-chirurgischen Behandlung von Patienten mit hämorrhagischen Diathesen wird örtlich das aktive Gerinnungsferment Thrombin angewendet. (In jüngster Zeit haben W. SCHULTE (38) und D. VOSS (55) auf die fibrinolytischen Eigenschaften der Thrombinpräparate hingewiesen.)

Zur Fernhaltung des Speichels von der Wunde verwendet man auch die von W. SCHULTE (40) angegebene, und von H. WÖRNER (60) verbesserte, elastisch unterfütterte Verband- und Aufbissplatte. Diese schränkt den Speichelzutritt zu einem erheblichen Teil ein. Um das örtliche fibrinolytische Potential zu senken, wird seit einiger Zeit von W. SCHULTE bei der lokalen Wundversorgung von Patienten mit hämorrhagischen Diathesen auch die Verwendung von EACS erprobt. Dabei wird ein Depot dieses Stoffes mit Gelatineschwamm oder Oxyzelulose-tamponade, mit Hilfe der bereits erwähnten Verwandplatte, über der nahtverschlossenen Wunde angelegt.

Die Technik der entsprechenden Wundversorgung, unter Berücksichtigung der sogenannten resorbierbaren Tamponmaterialien, wurde von W. SCHULTE (41) ausführlich erörtert.

Die Aufgabe dieser Arbeit soll es nun sein, mit einer bereits bekannten Methode zum Fibrinolyse-Nachweis, die Wirkung der EACS auf die fibrinolytische Aktivität des Speichels experimentell zu prüfen. Es soll festgestellt werden, ob eine Hemmung erreicht werden kann und bei welchen Konzentrationen an EACS diese optimal ist. Weiter soll die wahrscheinlich günstigste Anwendungsart für die intraorale Chirurgie angegeben werden.

II. Eigene Untersuchungen

1. Methoden

Für die Untersuchung der fibrinolytischen Aktivität des Speichels haben wir die von J. JÜRGENS und F.K. BELLER (19) modifizierte Fibrinplattenmethode nach T. ASTRUP (4) und S. MÜLLERTZ (28) verwendet.

Das tierische Fibrin in diesen Platten enthält große Mengen Plasminogen, das mit Plasminogen-Aktivatoren reagiert. Enthält der Speichel einen Aktivator, so wird das Plasminogen in Plasmin übergeführt, und es kommt auf der Platte zu einer Lyse. Enthält der Speichel keinen Aktivator, sondern nur einen Pro-aktivator, so läßt sich das prüfen, indem dieser durch einen Streptokinasezusatz aktiviert wird.

2. Material und Technik

a) Herstellung der Fibrinplatten

Bei allen Versuchen haben wir die in der Bakteriologie gebräuchlichen Petrischalen mit planparallelem Boden und einem Innendurchmesser von 10 cm benutzt. Sie wurden vor Gebrauch zwei Stunden bei 200° C heißluftsterilisiert. Ebenso wurden alle bei der Herstellung der Platten verwendeten Gefäße und Pipetten behandelt.

Bei der Herstellung der Fibrinagarschicht hielten wir uns streng an die Angaben von F.K. BELLER (19).

Bei unseren Versuchen wurden, ungleich den bei F.K. BELLER beschriebenen Platten mit einem Außendurchmesser von 10 cm, größere Platten mit einem

Innendurchmesser von 10 cm verwendet. Um die gleiche Schichtdicke von 2,5 mm zu erzielen, mußte der Inhalt nach der Formel

$$v = r^2 \pi h$$

berechnet werden. Er betrug für diese Platten 19,7 ccm. Diese wurden mittels einer sterilen Pipette in die zuvor mit der Wasserwaage horizontal ausgerichteten Platten gebracht.

Nach Verfestigung der Platten wurden diese bis zum Gebrauch im Kühlschrank bei + 4° C aufbewahrt.

Zwei Stunden vor dem Gebrauch wurden dann die jeweils benötigten Platten aus dem Kühlschrank genommen und mit 4 ccm Thrombinlösung übergossen. Diese wurde aus Thrombinum purum der Behringwerke hergestellt. (Zwei Fläschchen à 100 NIH-Einheiten wurden mit jeweils 2 ccm Michaelispuffer beschickt.) Nach zwei Stunden wurden die Thrombin-Lösung abgegossen und die Platten zweimal mit sterilem Aqua bidest. abgeschwenkt. Wir sind hier von der Originalmethode abgewichen, um die fibrinolytische Aktivität des Thrombins zu berücksichtigen und weitgehend auszuschalten.

Aus der Fibrinagar-Schicht wurden mit einem scharfen Korkbohrer von 6 mm Außendurchmesser nach einer vorbereiteten Schablone 12 oder mehr Löcher ausgestanzt. Das ausgestanzte Material wurde mit einer an die Wasserstrahlpumpe angeschlossenen Pipette abgesaugt. Die einzelnen Löcher wurden auf der Außenseite der Schale nummeriert.

Die Herstellung der Streptokinase-Lösung erfolgte nach den Angaben von J. JÜRGENS und F.K. BELLER (19). Verwendung fand Varidase^R der Firma Lederle. 20 000 E Streptokinase wurden mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst.

b) Reagenzien

Die verwendete Epsilon-Aminocaprönsäure war entweder 10 %ig (Hersteller Behringwerke AG, Marburg/Lahn) oder für die Versuche mit Verdünnungsreihen bei noch höheren Konzentrationen 40 %ig (Hersteller Deutsche Hoffmann La Roche AG, Grenzach/Baden).

In einem Vergleichsversuch wurde Trasylol^R der Firma Bayer Leverkusen mit 5 000 E/ml verwendet.

c) Speichelgewinnung und Beimpfung der Platten

Für alle Versuche wurde nicht stimulierter Mischspeichel verwendet. Dazu haben wir insgesamt 35 gesunde Versuchspersonen beiden Geschlechts nicht früher als eine Stunde nach der letzten Mahlzeit in ein steriles Porzellanschälchen spucken lassen. Sie wurden aufgefordert, Speichel im Unterzungenraum ohne Durchmischungsbewegungen zu sammeln und dann unmittelbar vor dem Aus-speien einmal kurz zu durchmischen. Die benötigte Speichelmenge betrug pro Person ca. 1 ccm. Die Löcher der Fibrinplatten wurden mittels steriler Rekordspritzen mit einer Graduierung von 0,05 ccm beimpft.

Beim Aufziehen der Gemische in die Spritzen nach den jeweiligen Beimpfungsschemata wurde berücksichtigt, daß sich im Konus ziemlich genau 0,05 ml der aufgezogenen Substanz befinden. Dies entspricht der Menge zwischen zwei Teilstrichen im Zylinder. Um z. B. von dem Gemisch Speichel-Streptokinase-EACS ein Verhältnis von 1 : 1 : 1 zu erreichen, wurde zunächst bis zum 2. Teilstrich EACS, dann mit einer neuen Kanüle Streptokinase bis zu Teilstrich 5 aufgezogen. Es befanden sich dann im Zylinder 3 Teile EACS und 2 Teile Streptokinase, sowie 1 Teil Streptokinase im Konus. Mit einer weiteren Kanüle wurde Speichel bis zum Teilstrich 8 aufgefüllt und der Rest von 0,05 ml im Konus eingezogen bis zum Teilstrich 9. Somit waren von jeder Substanz 3 gleiche Teile im Spritzenzylinder. Die Gemische wurden kräftig durchgeschüttelt.

Die Beimpfung der Platten (0,05 ccm pro Loch) erfolgte innerhalb der nächsten halben Stunde. Anschließend wurden die beimpften Platten 24 Stunden bei 37° C in einem Brutschrank mit horizontalgerichteten Fächern gehalten.

d) Auswertung der Fibrinplatten

Die Bestimmung der fibrinolytischen Aktivität erfolgte nach der Originalmethode durch Ausmessung der durch den Speichel hervorgerufenen Lysehöfe. Von sämtlichen Platten wurden unter einem Vergrößerungsgerät Abzüge auf extra hartes Papier gemacht. Die Belichtungszeit wurde konstant gehalten (1,8 sec.).

Zur Auswertung der Lysehöfe verwendeten wir eine durchsichtige Zelluloid-schablone nach W. SCHULTE (39).

In dem nachfolgenden Text und in den graphischen Darstellungen und Tabellen wird die fibrinolytische Aktivität mit FA bezeichnet. Alle Werte sind auf den Null-Wert = 64 = der Größe des ausgestanzten Loches auf der Platte bezogen. Die FA-Zahlen sind jeweils das Produkt zweier senkrecht aufeinanderstehender Hofdurchmesser.

3. Versuche und Ergebnisse

Vorversuche

In einer Serie von 10 Vorversuchen machten wir uns mit der Methodik und Technik der Fibrinolysebestimmung vertraut. Sie ergaben, abgesehen davon, daß der Speichel fibrinolytische Aktivität besitzt, deutliche individuelle Schwankungen.

Versuchsreihe 1

Bei 25 Versuchspersonen wurde der Mischspeichel auf sein fibrinolytisches Verhalten bei Anwesenheit von EACS in zwei Konzentrationen geprüft. Dabei wurden der Proaktivator und der Aktivator bestimmt.

Ausführung: Pro Person wurde eine Platte mit 12 ausgestanzten Löchern beimpft. Einige Platten hatten 14 ausgestanzte Löcher, um einen EACS- und Streptokinase-Leerwert mitzutesten.

Das Beimpfungsschema war für alle Versuchspersonen gleich:

Loch Nr. 1 - 2	Speichel+ NaCl	1 : 2
3 - 4	Speichel+NaCl+Streptokinase	1 : 1 : 1
5 - 6	Speichel+NaCl+EACS	1 : 1 : 1
7 - 12	Speichel+Streptokinase+EACS	1 : 1 : 1

Die verwendeten EACS-Konzentrationen waren

- a) bei 15 Personen 10 %ig
- b) bei 10 Personen 40 %ig

Das entspricht, bezogen auf die EACS-Gesamtkonzentration in den Gemischen für

- a) 3,3 %, b) 13,3 %.

Ergebnisse: In der Tabelle 1 sind die Einzel- und Mittelwerte der Gruppe a), in Tabelle 2 die Werte der Gruppe b) zusammengestellt.

Bei den Versuchspersonen beider Gruppen ist in Übereinstimmung mit den früheren Ergebnissen von W. SCHULTE (42) und O.K. ALBRECHTSEN und J. H. THAYSEN (2) die FA des streptokinaseaktivierten Speichels immer erheblich größer als die des nicht aktivierten Speichels.

Bei Gruppe a) wiesen 7 Versuchspersonen keinen Aktivator auf (Vp 2, 6, 8, 10, 12, 14). Bei Zugabe der EACS zum nicht aktivierten Speichel-NaCl-Gemisch kam es in 12 Fällen zu einer Steigerung des FA, darunter 6 der oben erwähnten 7 Vp ohne Aktivator. Bei 2 Versuchspersonen (3 und 9) trat eine Hemmung ein, und in einem Fall erfolgte keine Wirkung (Vp 11).

Bei Zugabe des EACS zum streptokinaseaktivierten Speichelgemisch erfolgte in 13 Fällen eine zum Teil deutliche Steigerung der FA, gemessen an der FA des Speichel-NaCl-Streptokinase-Gemisches. Bei Vp 8 und 14 erfolgte eine geringe Hemmung. Diese zwei Versuchspersonen sind nicht identisch mit den zwei Personen, bei denen es im Speichel-NaCl-EACS-Gemisch zu einer Hemmung kam.

Die Abbildung 1 zeigt die graphische Darstellung der FA-Mittelwerte aus Tabelle 1.

Bei den Versuchspersonen 2, 6, 8, 10, 11, 12, 14 war kein Aktivator im Speichel vorhanden. Dennoch erfolgte bei den Vp 2, 6, 8, 10, 12, 14 eine FA-Steigerung nach EACS-Zugabe zum nicht aktivierten Gemisch. Ebenso waren bei den Vp 1, 4, 5, 7, 10, 13, 15 die FA-Werte erhöht. Bei Vp 3 und 9 wurde der Aktivator komplett gehemmt.

Die EACS-Zugabe zum streptokinaseaktivierten Speichelgemisch hatte mit Ausnahmen der Versuchspersonen 8 und 14 einen teils erheblichen Anstieg der FA zur Folge. Bei den Vp 8 und 14 erfolgte eine geringfügige Hemmungswirkung auf den Proaktivator.

Bei allen Versuchspersonen, bei denen nach Zugabe der EACS zu den Gemischen eine Steigerung der FA erfolgte, muß der EACS eine fördernde Wirkung zugeschrieben werden. Diese erstreckt sich bei 10 Versuchspersonen sowohl auf den Aktivator als auch auf den Proaktivator, bei 2 Personen (Vp 3 und 9)

Name	Speichel+NaCl 1:2	Sp. +Streptok. +NaCl 1:1:1	Sp. +NaCl+EACS(10%) 1:1:1 (=3, 3%)	Sp. +Streptok. +EACS(10%) 1:1:1 (=3, 3%)	
	Einzel- werte	Mittel- wert	EW.	MW.	MW.
	Loch Nr. I II		III IV	V VI	VII VIII IX X XI XII
M. Bl. 23 ♂	72,5	72,5	144 150	106 106	182 182 182 169 169 169
G. K. 22 ♀	64	64	156 182	132 132	182 132 189 182 182 182
S. J. 29 ♀	112	106	121 121	64 64	156 156 156 150 150 150
E. P. 29 ♀	100	112	196 210	132 112	210 225 225 189 189 189
M. B. 20 ♀	81	81	150 169	121 116,5	210 196 189 196 182 169
B. G. 24 ♀	64	64	144 144	150 112	225 196 189 182 144 112
B. S. 22 ♀	81	72,5	121 121	100 90,5	132 144 156 162,5 156 150
G. K. 26 ♀	64	64	144 121	81 64	144 144 132 132 106 -
V. L. 21 ♀	144	126,5	182 175,5	64 64	225 225 225 225 196 196
B. F. 29 ♀	64	64	132 132	72,5 72,5	156 162,5 162,5 156 144 144
H. H. 22 ♂	64	64	121 116,5	64 64	132 132 132 121 116,5 112
G. D. 26 ♂	64	64	112 112	90,5 90,5	144 144 144 144 121 112
U. P. 24 ♀	81	90,5	156 156	112 106	169 169 182 189 150 144
H. L. 26 ♂	64	64	150 156	132 132	162,5 156 156 156 138 138
M. G. 26 ♂	81	81	150 121	106 90,5	156 150 144 - 144 -
					175,5 183,2 153 204,5 190,3 174,6 150,1 131,6 215,3 154,2 124,2 134,8 167,2 151,1 148,5

Tab. 1
Einzel- und Mittelwerte der FA aus dem Versuch 1 a

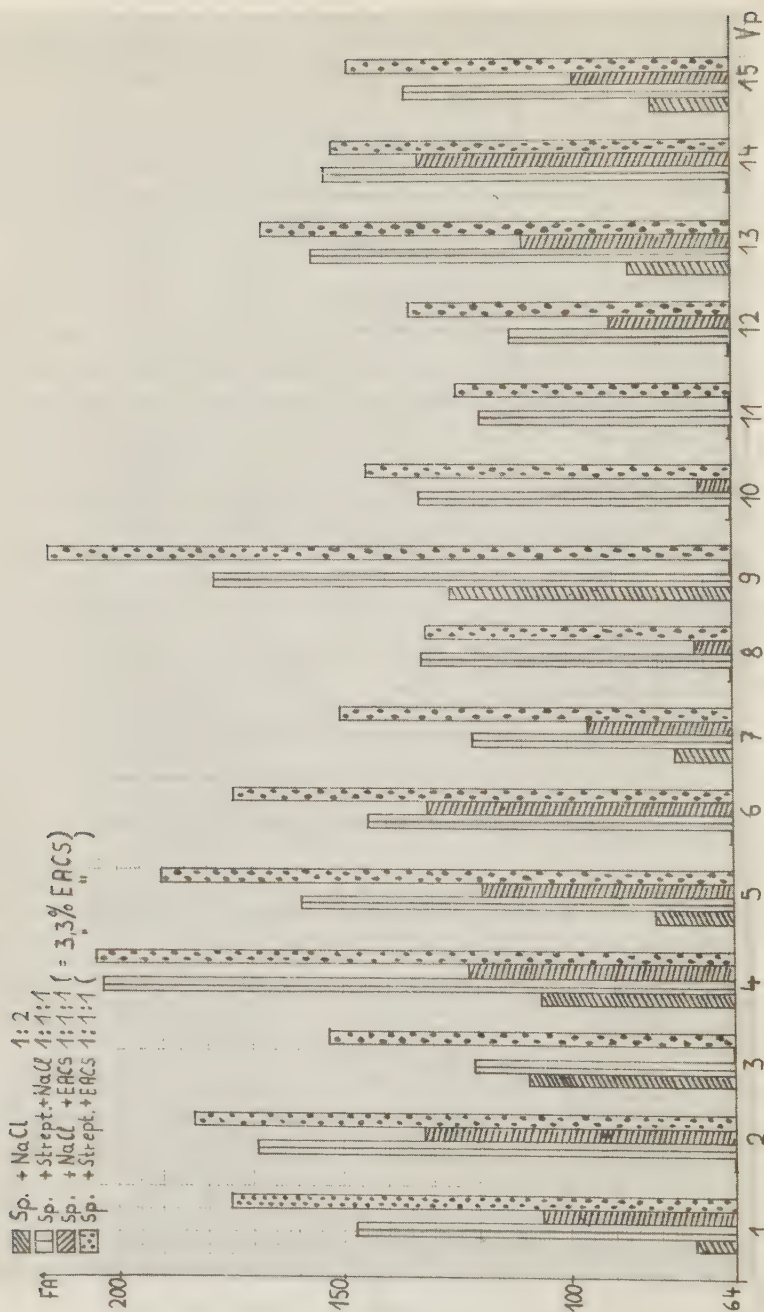


Abb. 1: Graphische Darstellung der FA-Mittelwerte aus Tab. 1. Bei den Versuchspersonen 2, 6, 8, 10, 11, 12, 14 war kein Aktivator im Speichel vorhanden. Dennoch erfolgte bei den Vp. 2, 6, 8, 10, 12, 14 eine FA-Steigerung nach EACS-Zugabe zum nicht aktivierten Gemisch. Ebenso waren bei den Vp. 1, 4, 5, 7, 10, 13, 15 die FA-Werte erhöht. Bei Vp. 3 und 9 wurde der Aktivator komplett gehemmt. Die EACS-Zugabe zum streptokinaseaktivierten Speichelgemisch hatte mit Ausnahmen der Vp. 8 und 14 einen teils erheblichen Anstieg der FA zur Folge. Bei den Vp. 8 und 14 erfolgte eine geringfügige Hemmungswirkung auf den Proaktivator.

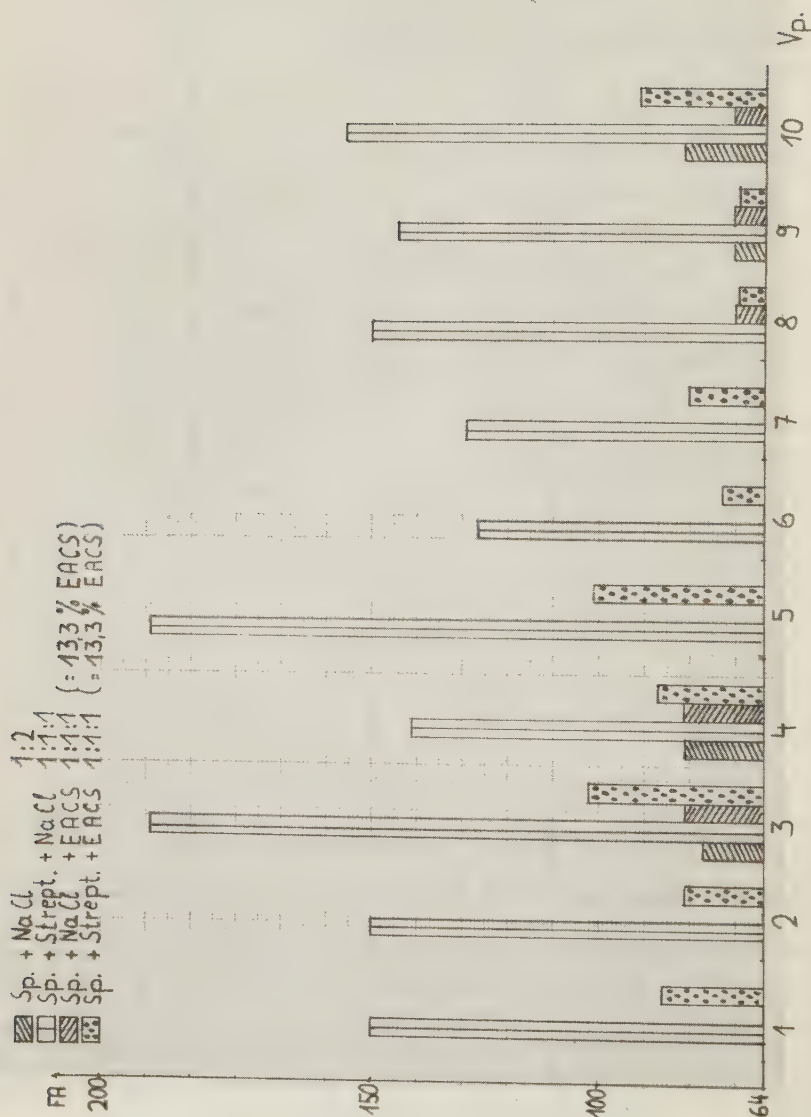


Abb. 2: Graphische Darstellung der FA-Mittelwerte aus Tab. 2. Von 10 Versuchspersonen wiesen 6 keinen Aktivator im Speichel auf (Vp. 1, 2, 5, 6, 7 und 8). Bei Zugabe der EACS (40 %) zum nicht aktivierten Speichel-NaCl-Gemisch erfolgte in drei Fällen eine Beeinflussung der FA. Es kam bei 2 Personen (Vp. 3 und 8) zu einer geringen Steigerung der FA. In einem Fall (Vp. 10) ergab sich eine Hemmung der FA. Bei 7 Personen trat keine Wirkung ein, davon wiesen 5 Vp. keinen Aktivator im Speichel auf.

Bei Zugabe der EACS zum aktivierten Speichelgemisch erfolgte in jedem Fall eine wesentliche Hemmung des Proaktivators, die bei Vp. 9 komplett war.

Name	Speichel+NaCl 1:2		Sp. +Streptok. +NaCl 1:1:1		Sp. +NaCl+EACS(40%) 1:1:1 (=13, 3%)		Sp. +Streptok. +EACS(40%) 1:1:1 (=13, 3%)		MW.
	Einzel- werte	Mittel- wert	EW.	MW.	EW.	MW.	EW.	MW.	
			III IV		V VI		VII VIII IX X XI XII		
H. H.	22 ♂	64	150 150	150	64 64	64	90,5 81 90,5 81	- -	85,7
R. L.	25 ♂	64	150 150	150	64 64	64	81 81 81 81	81 -	81
U. P.	24 ♀	77,25	189 189	189	81 81	81	100 106 100 106	100 -	102,4
N. G.	28 ♂	81	150 132	141	81 81	81	90,5 90,5 90,5 90,5	81 81	87,3
K. H.	25 ♂	64	189 189	189	64 64	64	100 100 106 100	- -	101,5
H. M.	24 ♂	64	132 121	126,5	64 64	64	81 81 81 64	64 64	72,5
P. W.	26 ♂	64	132 126,5	129,25	64 64	64	90,5 90,5 90,5 81	64 64	80,1
K. D.	26 ♂	64	150 150	150	70,5 70,5	70,5	81 81 64 64	64 64	69,6
P. U.	25 ♂	70,5	144 144	144	70,5 70,5	70,5	81 70,5 70,5 64	64 64	69
R. J.	40 ♀	81	162,5 150	156,25	70,5 70,5	70,5	70,5 81 90,5 106	100 100	91,3

Tab. 2
Einzel- und Mittelwerte der FA aus dem Versuch 1 b

nur auf den Proaktivator und bei den Vp 8 und 14 nur auf den Aktivator. Bei der Versuchsperson 11 war vor und nach der EACS-Zugabe zum Speichel-NaCl-Gemisch keine FA bzw. kein Aktivator vorhanden.

Bei Gruppe b) wiesen 6 Versuchspersonen keinen Aktivator auf. Bei Zugabe der EACS (40 %) zum nicht aktivierten Speichel-NaCl-Gemisch erfolgte in drei Fällen eine Beeinflussung der FA. Es kam dabei bei 2 Personen (Vp 3 und 8) zu einer geringen Steigerung der FA gegenüber der FA des Speichel-NaCl-Gemisches. In einem Fall (Vp 10) ergab sich eine geringe Hemmung der FA. Bei 7 Personen trat keine Wirkung ein, davon wiesen fünf keinen Aktivator im Speichel auf.

Allgemein läßt sich sagen, daß die FA des nicht aktivierten Speichelgemisches, die vom Aktivatorgehalt bestimmt wird, durch die 40 % EACS weitgehend unbeeinflusst bleibt.

Bei Zugabe der EACS (40 %) zum aktivierten Speichel-Streptokinase-Gemisch kam es in jedem Fall zu einer wesentlichen Hemmung der FA, gemessen an der FA des aktivierten Speichel-Streptokinase-NaCl-Gemisches. Die FA-Werte liegen im allgemeinen nicht viel höher als die des nicht aktivierten Speichelgemisches. In zwei Fällen (Vp 8 und 9) war die FA sogar geringfügig unter den Wert der FA des nicht aktivierten Speichel-NaCl-EACS-Gemisches gesunken.

Die Abb. 2 zeigt die graphische Darstellung der Mittelwerte aus Tab. 2.

Bei allen Versuchspersonen führt der EACS-Zusatz zu einer deutlichen Hemmung des Proaktivators. Nur bei Vp 9 ist diese Hemmung komplett.

Die Tab. 3 enthält die Mittelwerte der FA-Mittelwerte der Tab. 1 und 2.

Die Abb. 3 zeigt die graphische Darstellung der Werte aus Tab. 3.

Aus der Abb. 3 ergibt sich eindeutig, daß die 10 %ige EACS entsprechend einer Gesamtkonzentration von 3,3 % EACS in den Gemischen sowohl den Aktivator, als auch den Proaktivator fördert, also keinerlei Hemmwirkung zeigt. Weiter ist ersichtlich, daß die 40 %ige EACS bei einer Gesamtkonzentration von 13,3 % EACS den Aktivator unbeeinflusst läßt. Der Proaktivator bzw. die Umwandlung des Proaktivators in den Aktivator wird weitgehend, aber nicht vollständig gehemmt.

	Gesamt-EACS-Konzentration	
	a) 3,3 %	b) 13,3 %
	Mittelwerte der FA	Mittelwerte der FA
Speichel+NaCl 1:2	79,68	69,38
Speichel+NaCl+Streptok. 1:1:1	145,53	152,5
Speichel+NaCl+EACS 1:1:1	98,11	69,35
Speichel+Streptok. +EACS 1:1:1	163,87	84,04

Tab. 3

Mittelwerte der FA-Mittelwerte aus den Tab. 1 und 2

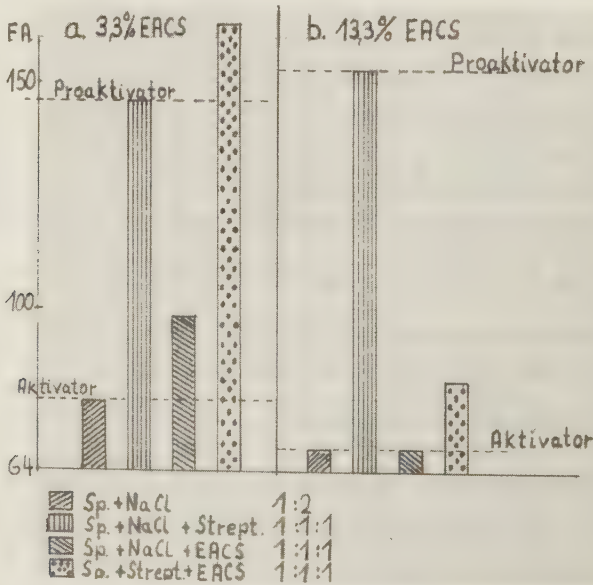


Abb. 3: Graphische Darstellung der FA-Mittelwerte der Tab. 3

- a) Bei Zugabe der 10 %igen EACS, entsprechend einer absoluten EACS-Konzentration von 3,3 % in den Gemischen, erfolgt eine eindeutige Steigerung der FA gegenüber den Gemischen ohne EACS.
- b) In einer absoluten Konzentration von 13,3 % hemmt die EACS die FA weitgehend. Der Aktivator bleibt unbeeinflusst, der Proaktivator wird nicht komplett gehemmt.

Versuchsreihe 2

Die bisherigen Untersuchungen haben gezeigt, daß mit Konzentrationen von 13,3 % EACS eine deutliche Hemmung, mit 3,3 % EACS dagegen eine Förderung der FA des Speichels zu erzielen ist.

Es ist nun zunächst von Interesse, welchen Einfluß die Inkubationszeit zwischen EACS und Speichel vor der Überimpfung auf die FA des Gemisches hat.

Ausführung: Der Speichel zweier Personen wurde untersucht. Pro Person waren drei Platten zur Beimpfung vorbereitet. Die Inkubationszeiten in den Spritzen betrugen jeweils 4 1/2, 2, 1, 1/2 Stunden und Null, also unmittelbar vor dem Beimpfen.

- a) Auf die ersten beiden Platten wurde ein Gemisch von Speichel-Streptokinase-NaCl 1:1:1 geimpft.
- b) Die nächsten zwei Platten wurden mit einem Gemisch von Speichel-NaCl-EACS 1:1:1 beimpft.
- c) Auf die letzten beiden Platten wurde ein Gemisch von Speichel-Streptokinase-EACS 1:1:1 geimpft.

Die Konzentration der EACS war 10 %ig, entsprechend einer Gesamtkonzentration in den Gemischen von 3,3 %.

Die Löcher der Platten wurden nach folgendem Schema beimpft:

- | | | |
|----------|---------|--|
| Loch Nr. | 1 - 2 | unmittelbar zuvor gefüllte Spritze |
| | 3 - 4 | eine halbe Stunde zuvor gefüllte Spritze |
| | 5 - 6 | eine Stunde zuvor gefüllte Spritze |
| | 7 - 9 | zwei Stunden zuvor gefüllte Spritze |
| | 10 - 12 | viereinhalb Stunden zuvor gefüllte Spritze |

Ergebnisse: In der Tab. 4 sind die Werte der FA und der Einfluß der Inkubationszeit auf die Größe der FA zusammengestellt.

Die Inkubationszeit hat also einen Einfluß auf die FA bei allen drei Reaktionsgemischen. Die FA wird bei steigender Inkubationszeit geringer. Vor allem bei dem Gemisch Speichel-NaCl-EACS kommt es zu einem wesentlichen Abfall der FA. Nach einer Inkubationszeit von viereinhalb Stunden war keine bzw. nur noch eine geringe FA festzustellen. Man kann dies eventuell mit der relativen Instabilität des Aktivators erklären.

Name	Sofort		1/2 Stunde		1 Stunde		2 Stunden		4 1/2 Stunden	
	Einzel- werte	Mittel- wert	EW.	MW.	EW.	MW.	EW.	MW.	EW.	MW.
	Loch Nr. I II		III IV		V VI		VII VIII IX		X XI XII	
a) G. K. 22 ♀	162,5	162,5	144 -	144	144	132	121	121	144	133,3
V. L. 21 ♀	162,5	162,5	156 156	156	144	156	150	150	132	140
b) G. K. 22 ♀	169	126,5	156 132	144	112	112	150	144	81	75,3
V. L. 21 ♀	169	150	156 150	153	106	106	90,5	100	64	64
c) G. K. 22 ♀	189	189	189 182	185,5	182	182	189	189	162,5	162,5
V. L. 21 ♀	225	225	225 203	214	182	182	156	156	150	150

Tab. 4
Einzel- und Mittelwerte der FA in Abhängigkeit von verschiedenen Inkubationszeiten.
Die Reaktionsgemische bestanden aus:
a) Speichel+NaCl+Streptokinase 1:1:1
b) Speichel+NaCl+EACS (10 %) 1:1:1 (=3,3 %)
c) Speichel+Streptokinase+EACS (10 %) 1:1:1 (=3,3 %)

Bei den anderen beiden Gemischen war der Einfluß der Inkubationszeit geringer. Von Bedeutung für die Versuchsausführung ist, daß sich der Abfall der FA in der ersten halben Stunde bei allen drei Gemischen in etwa gleich verhält. Größere Abweichungen und teilweise Gegenläufigkeiten treten erst bei Inkubationszeiten von über einer halben Stunde auf.

Die Abb. 4, 5 und 6 zeigen die graphischen Darstellungen der FA in Abhängigkeit von der Inkubationszeit bei den verschiedenen Reaktionsgemischen.

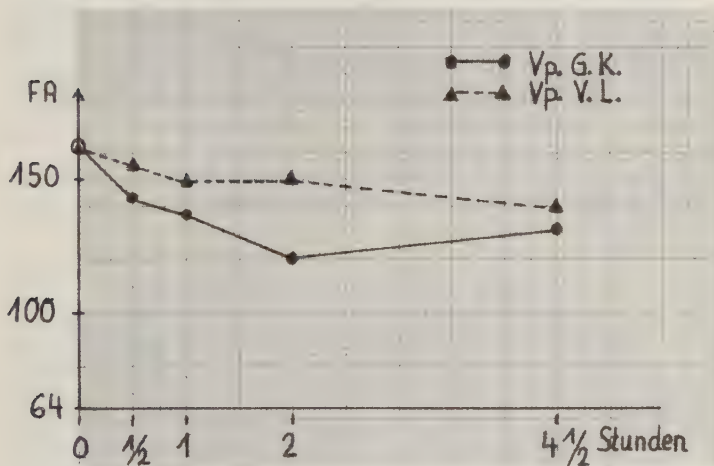
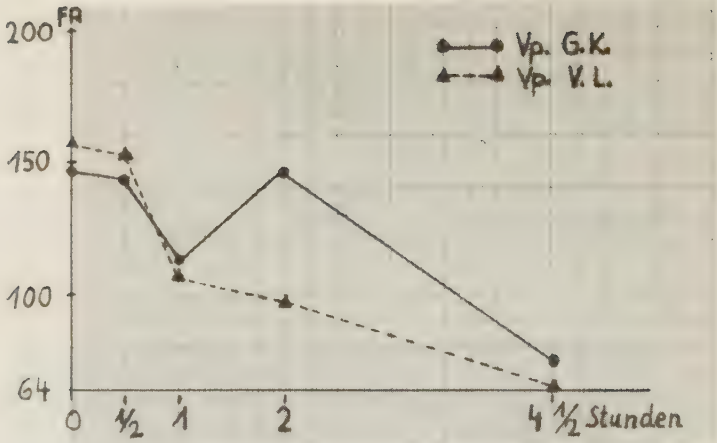


Abb. 4: Graphische Darstellung der Mittelwerte der FA aus Tab. 4 a. Abfall der FA eines Speichel-Streptokinase-NaCl-Gemisches bei zunehmender Inkubationszeit (Abszisse).



Graphische Darstellung der Mittelwerte der FA aus Tab. 4 b. Abfall der FA eines Speichel-NaCl-EACS-Gemisches bei zunehmender Inkubationszeit (Abszisse).

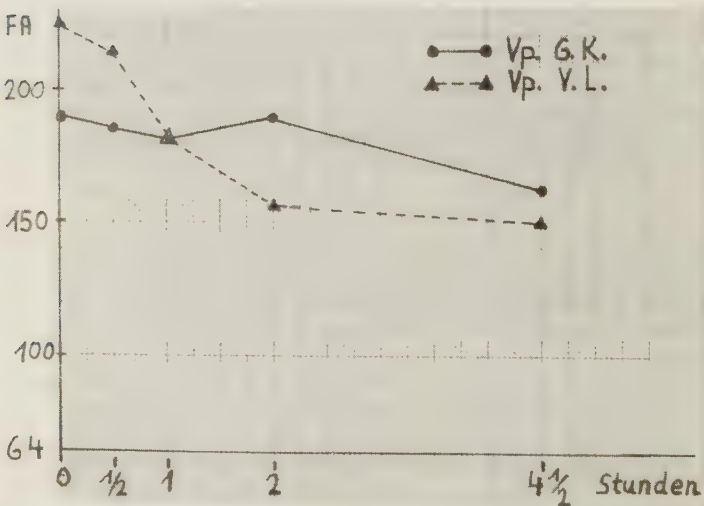


Abb. 6: Graphische Darstellung der Mittelwerte der FA aus Tab. 4 c. Abfall der FA eines Speichel-Streptokinase-EACS-Gemisches bei zunehmender Inkubationszeit (Abszisse).

Versuchsreihe 3

Da nach den bisherigen Ergebnissen eine Konzentrationsabhängigkeit der EACS-Wirkung besteht, soll anhand einer Verdünnungsreihe der EACS geprüft werden, ob und wo eine optimale Hemmung zu erreichen ist.

Parallel dazu soll eine Verdünnungsreihe mit Trasylol angelegt werden. Dem Trasylol wird eine vollständigere Hemmung der FA zugeschrieben.

Ausführung: Der Speichel von 5 Personen wurde untersucht. Die Verdünnungen der EACS wurden von der 10 %igen Lösung ausgehend wie folgt hergestellt:

Verdünnt wurde mit steriler physiologischer Kochsalzlösung.

Stammlösung

10 %ige EACS	5 %ige EACS	2, 5 %ige EACS	1, 25 %ige EACS
= 3, 3 % EACS	= 1, 65 % EACS	= 0, 83 % EACS	= 0, 41 % EACS
im Gesamtgemisch			

Die Verdünnungen der Trasylol-Lösung erfolgte wie angegeben. Auch hier wurde mit steriler physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Stammlösung

5 000 E Tras/ml	1 000 E Tras/ml	500 E Tras/ml	250 E Tras/ml
= 1 666 E/ml	= 333 E/ml	= 166 E/ml	= 83 E/ml
des Gesamtgemisches			

Die Inkubationszeit betrug 10 - 15 Minuten. Um die mögliche unterschiedliche Sensibilität verschiedener Platten der gleichen Serie zu berücksichtigen und weitgehend auszuschließen, wurden beide Verdünnungsreihen nach folgendem Schema geimpft:

Pro Person wurden zwei Platten mit je 12 Löchern beimpft und bei der Auswertung die Mittelwerte aus den identisch beimpften Löchern beider Platten gebildet.

Folgendes Beimpfungsschema wurde benützt:

absolute Kon-
zentrationen

Loch Nr.	1 Speichel+NaCl	1:2	-
	2 Speichel+NaCl +Strept.	1:1:1	-
	3 Speichel+NaCl +EACS (10 %)	1:1:1	3,3 %
	11 Speichel+Strept. +EACS (1,25 %)	1:1:1	0,41 %
	9 Speichel+Strept. +EACS (2,5 %)	1:1:1	0,83 %
	7 Speichel+Strept. +EACS (5 %)	1:1:1	1,65 %
	5 Speichel+Strept. +EACS (10 %)	1:1:1	3,3 %
	4 Speichel+NaCl +Tras (5 000 E)	1:1:1	1666 E
	12 Speichel+Strept. +Tras (250 E)	1:1:1	83 E
	10 Speichel+Strept. +Tras (500 E)	1:1:1	166 E
	8 Speichel+Strept. +Tras (1 000 E)	1:1:1	333 E
	6 Speichel+Strept. +Tras (5 000 E)	1:1:1	1666 E

Ergebnisse: In der Tab. 5 a und b sind die Einzel- und Mittelwerte der FA zusammengestellt.

Bei allen Personen enthielt der Speichel keinen Aktivator. Eindeutig läßt sich hier eine Abhängigkeit der FA-Hemmung von der Konzentration der EACS bzw. des Trasylols feststellen. Bei der kleinsten getesteten EACS-Konzentration von 0,41 % erfolgte bei den Versuchspersonen G. M. und G. K. eine geringe Steigerung der FA, bei Versuchsperson V. L. keine Beeinflussung und bei Versuchsperson H. H. eine FA-Hemmung. Bei Versuchsperson K. H. war dieser Wert nicht ablesbar.

Mit steigenden EACS-Konzentrationen kam es zu einer zunehmenden FA-Hemmung, die bei den Versuchspersonen G. M. und G. K. bei der höchsten getesteten Konzentration von 3,3 % EACS komplett war. Bei den anderen 3 Personen wurde der Proaktivator nur teilweise gehemmt.

Die Abb. 7 zeigt die graphische Darstellung der FA-Mittelwerte aus Tab. 5 a und 5 b für die Versuchspersonen G. M. und V. L. . Die Kurven der 3 anderen Personen verlaufen ähnlich.

Sp. +NaCl 1:2			Sp. +NaCl+ Strept. 1:1:1		Sp. +NaCl+EACS 1:1:1 (3,3 %)		Speichel+Streptokinase+EACS 1:1:1							
							(0,41 %)		(0,83 %)		(1,65 %)		(3,3 %)	
Loch Nr. I			II		III		XI		IX		VII		V	
Name	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.
G. M.	64 64	64	138 144	141	64 64	64	162,5 144	153,2	156 144	150	144 138	141	64 64	64
H. H.	64 64	64	144 182	163	64 64	64	138 132	135	132 121	126,5	132 90,5	111,25	121 81	101
V. L.	64 64	64	144 156	150	64 64	64	156 144	150	138 144	141	150 112	131	112 112	112
G. K.	64 64	64	138 144	141	64 64	64	156 138	147	100 90,5	95,25	90,5 81	85,75	64 64	64
K. H.	64 64	64	156 182	169	90,5 101,25	95,87	-	-	156 144	150	138 100	119	64 90,5	77,25

a)

Sp. +NaCl 1:2			Sp. +NaCl+ Strept. 1:1:1		Sp. +NaCl+Tras. 1:1:1 (1 666 E)		Speichel+Streptokinase+Trasayol 1:1:1							
							(83 E)		(166 E)		(333 E)		(1 666 E)	
Loch Nr. I			II		IV		XII		X		VIII		VI	
Name	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.	Platte 1 2	MW.
G. M.	64 64	64	138 144	141	64 64	64	132 144	138	100 64	82	64 64	64	64 64	64
H. H.	64 64	64	144 182	163	64 64	64	90,5 100	95,25	81 100	90,5	64 64	64	64 64	64
V. L.	64 64	64	144 156	150	64 64	64	64 81	72,5	64 64	64	64 64	64	64 64	64
G. K.	64 64	64	138 144	141	64 64	64	90,5 81	85,75	64 64	64	64 64	64	64 64	64
K. H.	64 64	64	156 182	169	81 106	93,5	64 64	64	64 64	64	64 64	64	64 64	64

b)

Tab. 5
Einzel- und Mittelwerte der FA aus Versuchsreihe Nr. 3

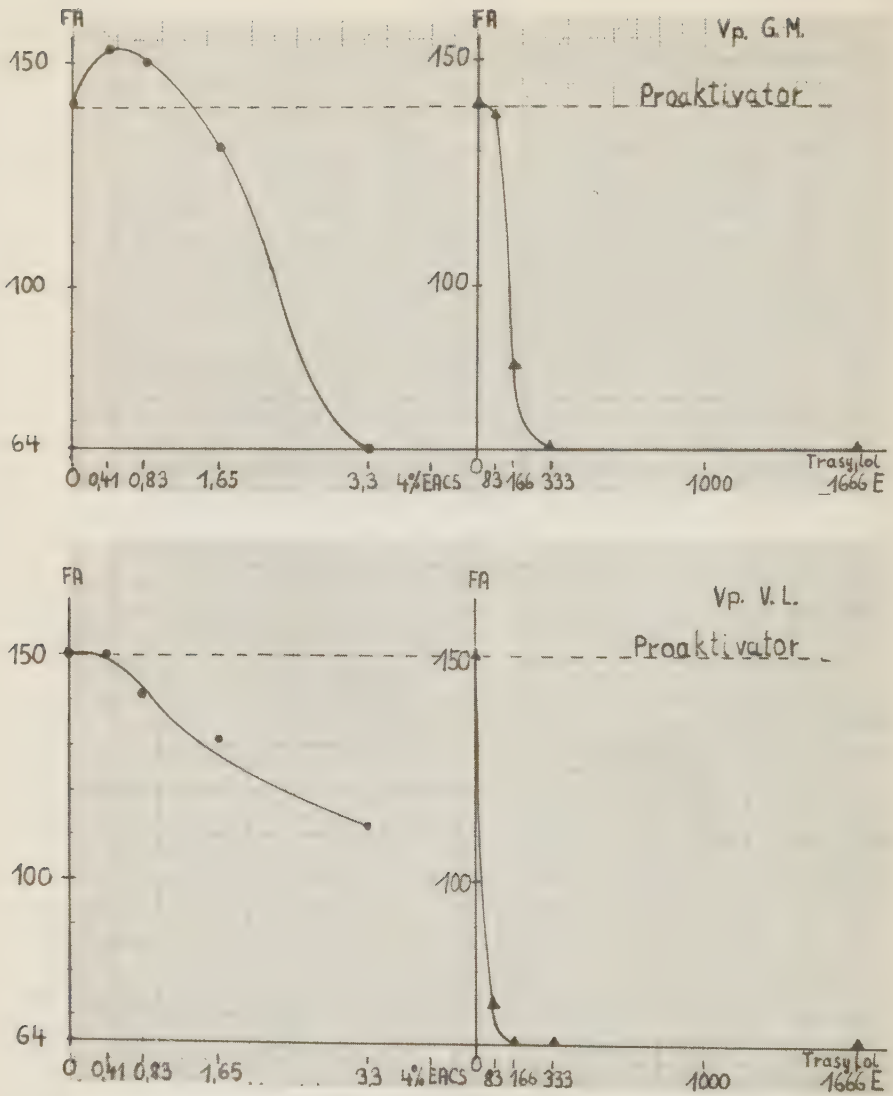


Abb. 7: Graphische Darstellung der FA-Mittelwerte eines Speichel-Streptokinase-Gemisches in Abhängigkeit von der EACS- bzw. Trasylool-Konzentration (Abszisse). Die Werte sind der Tab. 5 a und b für die Versuchspersonen G.M. und V.L. entnommen. Die FA-Hemmung durch Trasylool (rechte Hälfte der Abbildung) ist, bezogen auf die gewählten Konzentrationen, eindeutig größer als die durch die EACS.

Durch Trasylol erfolgte in allen fünf Fällen eine Hemmung der FA, die, bezogen auf die gewählten Konzentrationen, eindeutig größer war als die durch die EACS. Die FA-Hemmung nimmt mit steigenden Konzentrationen stark zu und erreicht bei den Versuchspersonen G. K. und K. H. mit 166 E Tras/ml und bei G. M. und H. H. mit 333 E Tras/ml den Maximalwert. Bei der Versuchsperson K. H. war die Hemmung schon bei der kleinsten getesteten Konzentrationen von 83 E Tras/ml maximal.

Die Kontaktabzüge waren schlecht auszuwerten, da zum großen Teil die Lysehöfe durch die Diffusionshöfe überdeckt wurden. Die Auswertung erfolgte hier direkt, indem die in der Durchsicht gut erkennbaren Lysehöfe mit der Schablone zur Deckung gebracht wurden.

		Mittelwerte der FA
Speichel+NaCl	1:2	64
Speichel+NaCl+Strept.	1:1:1	152,8
Speichel+NaCl+EACS (3,3 %)	1:1:1	70,37
Speichel+Strept.+EACS (0,41 %)	1:1:1	146,3
Speichel+Strept.+EACS (0,83 %)	1:1:1	132,55
Speichel+Strept.+EACS (1,65 %)	1:1:1	115,6
Speichel+Strept.+EACS (3,3 %)	1:1:1	83,65
Speichel+NaCl+Tras. (1666 E)	1:1:1	69,9
Speichel+Strept.+Tras. (83 E)	1:1:1	91,1
Speichel+Strept.+Tras. (166 E)	1:1:1	72,9
Speichel+Strept.+Tras. (333 E)	1:1:1	64
Speichel+Strept.+Tras. (1666 E)	1:1:1	64

Tab. 6
enthält die Mittelwerte der FA-Mittelwerte aus Tab. 5 a und b

Aus Tab. 6 ergibt sich, daß bei Zugabe von Streptokinase zum Speichel-EACS-Gemisch ein Anstieg der FA erfolgt, d. h. die Umwandlung des Proaktivators in den Aktivator wird nicht völlig gehemmt. Wird Streptokinase zum Speichel-Trasylol-Gemisch zugegeben, so verringert sich der FA-Wert geringfügig. Dies

kennzeichnet eine Inhibierung auch der Plasminwirkung auf der Platte durch Trasylol.

Die Abb. 8 zeigt die graphische Darstellung der Werte aus Tab. 6.

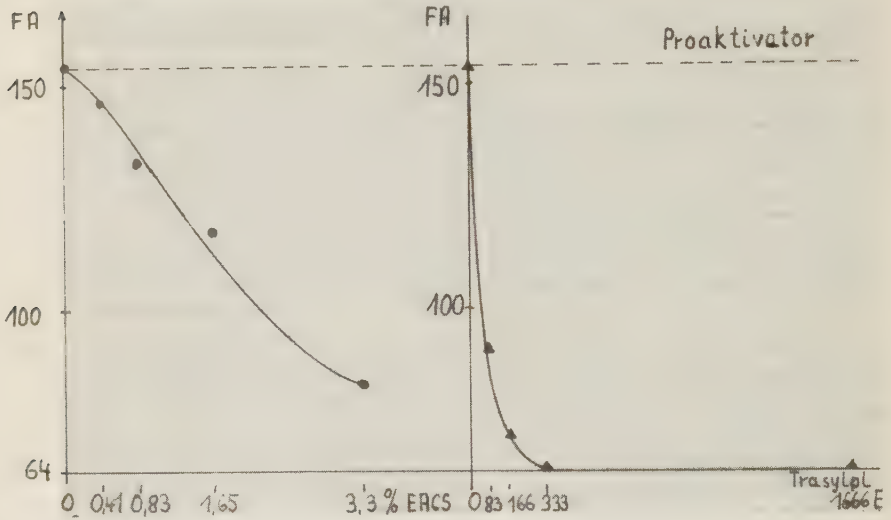


Abb. 8: Graphische Darstellung der FA-Mittelwerte eines Speichel-Streptokinase-Gemisches in Abhängigkeit von der EACS- bzw. Trasylol-Konzentration (Abszisse). Die Mittelwerte stammen von je 5 Versuchspersonen und sind in der Tab. 6 zusammengefaßt.

Aus Abb. 8 geht eindeutig hervor, daß die Hemmung der FA durch Trasylol, bezogen auf die gewählten Konzentrationen, größer ist als die durch EACS.

Versuchsreihe 4

Die bisherigen Versuche lassen erkennen, daß die FA-Hemmung der EACS konzentrationsabhängig ist, daß aber bei Konzentrationen um 10 % EACS = 3,3 % absolut und weniger (z. B. 1. Versuchsreihe 1 a) offensichtlich auch eine Steigerung der FA stattfindet. Diese Förderung scheint bei noch geringeren Konzentrationen ein Maximum zu haben und dann wieder abzunehmen (z. B. Versuchsperson G. M., Reihe 3 a).

Da die Steigerung der FA bei der therapeutischen Anwendung vermieden werden muß, soll durch weitere Konzentrationsreihen mit dem Speichel einer größeren Personenzahl geprüft werden, bei welchen Minimalkonzentrationen noch eine deutliche Hemmwirkung zu erwarten ist, bzw. welche Konzentrationen für eine totale Hemmung der Proaktivatoraktivität erforderlich sind.

Ausführung: Aus technischen Gründen (Größe der Fibrinplatten, Herstellung der erforderlichen Zahl, Bereitstellung der Versuchspersonen und Speichelabnahme zur gleichen Zeit) ist es nicht möglich, auf einem gleich empfindlichen Platten-substrat größere Konzentrationsreihenteste auszuführen. Wir haben deshalb in zwei Versuchsgruppen, für die jeweils eine Plattenserie hergestellt wurde, sich überschneidende Konzentrationsreihen gebildet und den EACS-Effekt unter gleichzeitiger Kontrolle der Aktivator- und Proaktivatoraktivität geprüft.

Die Konzentrationen und Impfschemen waren folgende:

a) 5 Personen mit je einer Standard-Fibrinplatte mit 14 ausgestanzten Löchern:

Loch Nr.			absolute EACS-Konzentration
1 - 2	Speichel+NaCl	1:2	-
3 - 4	Speichel+Strept. +NaCl	1:1:1	-
13 - 14	Speichel+Strept. +EACS (0,156 %)	1:1:1	0,051 %
11 - 12	Speichel+Strept. +EACS (0,313 %)	1:1:1	0,103 %
9 - 10	Speichel+Strept. +EACS (0,625 %)	1:1:1	0,206 %
7 - 8	Speichel+Strept. +EACS (1,25 %)	1:1:1	0,41 %
5 - 6	Speichel+Strept. +EACS (40 %)	1:1:1	13,3 %

b) 10 Personen mit je einer Standard-Fibrinplatte mit 13 ausgestanzten Löchern:

Loch Nr.			absolute EACS-Konzentration
1	Speichel+NaCl	1:2	-
2 - 3	Speichel+Strept. +NaCl	1:1:1	-
12 - 13	Speichel+Strept. +EACS (0,625 %)	1:1:1	0,206 %
10 - 11	Speichel+Strept. +EACS (1,25 %)	1:1:1	0,41 %
8 - 9	Speichel+Strept. +EACS (2,5 %)	1:1:1	0,83 %
6 - 7	Speichel+Strept. +EACS (10 %)	1:1:1	3,3 %
4 - 5	Speichel+Strept. +EACS (40 %)	1:1:1	13,3 %

Die Inkubationszeit der Gemische in den Spritzen vor dem Überimpfen betrug 10 - 15 Minuten.

Ergebnisse: In der Tab. 7 a und b sind die Einzel- und Mittelwerte der FA zusammengestellt.

Bei allen fünf Versuchspersonen verlaufen in Versuch 4 a die Kurven der FA-Werte ähnlich, und es ergibt sich eindeutig eine Konzentrationsabhängigkeit der EACS-Wirkung. Bei der kleinsten getesteten Konzentration von 0,051 % sind die FA-Werte gegenüber einem Speichel-Streptokinase-NaCl-Gemisch nur wenig höher. Mit zunehmenden Konzentrationen kommt es zu einer deutlichen Förderung der FA, die zwischen den Konzentrationen 0,41 % und 13,3 % EACS ihr Maximum besitzt. Mit 13,3 % EACS ist bei 4 Versuchspersonen (Vp. R. H., H. H., G. L. und N. G.) die Proaktivatoraktivität völlig, davon bei 2 Versuchspersonen (R. L. und G. L.) zusätzlich noch die Aktivatoraktivität teilweise gehemmt, da hier der FA-Wert niedriger ist als der des Speichel-NaCl-Gemisches. Bei Versuchsperson K. H. wird der Proaktivator nur zum Teil gehemmt.

Die Abb. 9 zeigt die graphische Darstellung der FA-Mittelwerte der Versuchspersonen H. H. aus Versuch 4 a und M. K. aus 4 b. Die Abszisse ist hier logarithmisch geteilt von 0,01 bis 100. Eine Einheit beträgt 50 mm.

In Versuch 4 b ist bei allen 10 Versuchspersonen eine Übereinstimmung der Kurven der FA-Mittelwerte festzustellen. Das Maximum der Förderwirkung liegt bei der Konzentration von 0,83 % EACS. Zwischen den Konzentrationen 3,3 % und 13,3 % EACS beginnt die Hemmwirkung der EACS. Mit der höchsten

Sp. +NaCl Strept. 1:1:1				EACS-Konzentrationen im Sp. -Strept. -Gemisch 1:1:1														
Sp. +NaCl 1:2		Sp. +NaCl+ Strept. 1:1:1		(0,051 %)			(0,103 %)			(0,206 %)			(0,41 %)			(13,3 %)		
Name	Einzel- Mittel- werte wert	EW.	MW.	EW.	MW.		EW.	MW.	EW.	MW.	EW.	MW.	EW.	MW.	EW.	MW.		
	Loch Nr. I II	III IV		XIII XIV		XI XII		IX X		VII VIII		V VI						
N. G.	100 90,5 95,25	132 144	138	144	144	144	156	156	144	144	144	144	189	196	192,5	95,25		
R. L.	81 81 81	100 100 100	100	106	106	106	81	81	81	112	112	112	144	144	144	64 64 64		
H. H.	64 64 64	126,5 132	129,25	138	138	138	150	150	150	162,5	162,5	162,5	162,5	159	165,75	64 64 64		
K. H.	150 150 150	139 203	196	196	196	196	217,5	217,5	217,5	232,5	232,5	228,75	232,5	232,5	232,5	162,5 162,5 162,5		
G. L.	90,5 90,5 90,5	156 156 156	156	189	182	185,5	189	189	189	210	210	210	203	203	203	81 81 81		
Sp. +NaCl+ Strept. 1:1:1				EACS-Konzentrationen im Sp. -Strept. -Gemisch 1:1:1														
Sp. +NaCl 1:2		Sp. +NaCl+ Strept. 1:1:1		(0,206 %)			(0,41 %)			(0,83 %)			(3,3 %)			(13,3 %)		
Name	Einzel- wert	Mittel- wert		EW.	MW.		EW.	MW.	EW.	MW.	EW.	MW.	EW.	MW.	EW.	MW.		
	Loch Nr. I II	III		XII XIII		X XI		VIII IX		VI VII		IV V						
D. B.	90,5 169 189	179	203 203	203	203	225 189	207	232,5	232,5	232,5	203	210	206,5	144	90,5	117,25		
B. G.	121 162,5 162,5	162,5	189 182	185,5	203 196	199,5	225	225	225	225	189	189	189	189	189	162,5 162,5 162,5		
B. F.	81 132 150	141	162,5 -	162,5	182 182	182	169	169	169	169	156	162,5	159,75	81	81	81		
G. S.	121 189 196	192,5	232,5 -	232,5	272 256	264	256	256	256	256	232,5	240	236,25	162,5	162,5	162,5		
J. S.	144 182 189	185,5	225 225	225	210 196	203	232,5	240	236,25	236,25	196	196	196	112	121	116,5		
U. P.	112 - 196	196	210 189	199,5	203	203	256	272	264	225	232,5	228,75	138	121	129,5	159,5		
W. G.	132 169 169	169	225 225	225	232,5 232,5	232,5	232,5	232,5	232,5	232,5	210	210	210	156	156	156		
V. L.	121 162,5 169	165,75	225 217,5	221,25	232,5 232,5	232,5	196	196	196	196	169	196	196	169	150	159,5		
G. K.	100 121 144	132,5	144 144	144	162,5 162,5	162,5	169	169	169	169	162,5	162,5	162,5	100	81	90,5		
M. K.	81 144 156	150	175,5 169	172,75	182 182	182	203	203	203	203	189	189	189	90,5	100	95,25		

Tab. 7 a und 7 b

getesteten Konzentration von 13,3 % EACS ist bei 3 Versuchspersonen (B. F., J. S. und G. K.) eine komplette Hemmung des Proaktivators erreicht, bei Vp. G. K. und J. S. wird zusätzlich der Aktivator teilweise gehemmt. Die Hemmung der Proaktivatoraktivität der weiteren 7 Versuchspersonen ist nicht vollständig.

		Mittelwerte der FA
Speichel+NaCl	1:2	96,15
Speichel+Strept. +NaCl	1:1:1	143,85
Speichel+Strept. +EACS (0,051 %)	1:1:1	153,9
Speichel+Strept. +EACS (0,103 %)	1:1:1	158,7
Speichel+Strept. +EACS (0,206 %)	1:1:1	171,45
Speichel+Strept. +EACS (0,41 %)	1:1:1	187,55
Speichel+Strept. +EACS (13,3 %)	1:1:1	93,35
Speichel+NaCl	1:2	110,35
Speichel+Strept. +NaCl	1:1:1	167,37
Speichel+Strept. +EACS (0,206 %)	1:1:1	196,8
Speichel+Strept. +EACS (0,41 %)	1:1:1	206,8
Speichel+Strept. +EACS (0,83 %)	1:1:1	221,9
Speichel+Strept. +EACS (3,3 %)	1:1:1	197,3
Speichel+Strept. +EACS (13,3 %)	1:1:1	127,05

Tab. 8

In der Tab. 8 sind die Mittelwerte der FA-Mittelwerte aus Tab. 7 zusammengefaßt.

Die Abb. 10 zeigt die graphische Darstellung dieser FA-Mittelwerte. Die Abszisse ist logarithmisch geteilt von 0,01 bis 100. Eine Einheit beträgt 50 mm. Aus dem Verlauf der Mittelwertskurven der zwei Versuchsgruppen geht eindeutig hervor, daß die EACS in niedrigen Konzentrationen die FA des Speichels erheblich steigert. Das Maximum dieser Förderung liegt bei der absoluten Konzentration von etwa 0,83 %. Die Größe der Hemmung ist naturgemäß von der Aktivität des Speichels abhängig. Der Vergleich der Kurven macht deutlich,

daß bei hoher Ausgangsaktivität eine gravierende Hemmung erst bei Konzentrationen von 13,3 % zu erwarten ist. Der annähernd parallele Verlauf der beiden Kurven beweist, daß die Konzentrationsabhängigkeit unabhängig von den Einflüssen der verschiedenen Plattenserien ist.

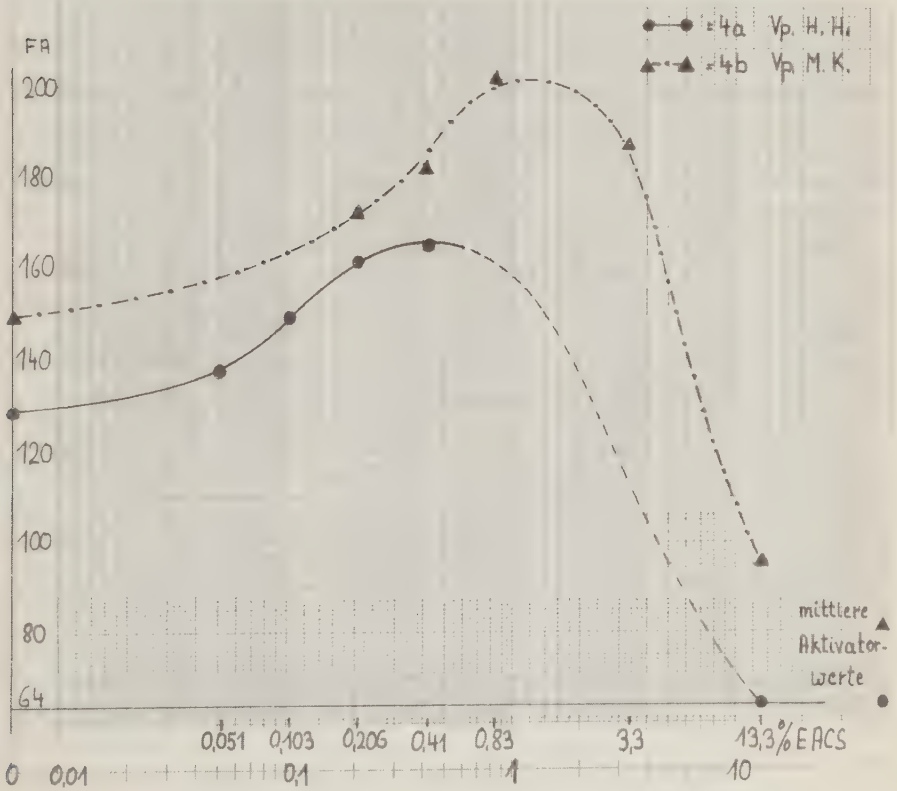


Abb. 9: Mittelwertkurven der FA eines Speichel-Streptokinase-Gemisches in Abhängigkeit von der EACS-Konzentration. Auf der Ordinate die FA in linearer Einteilung; auf der Abszisse die EACS-Konzentration in logarithmischer Einteilung. Die Werte stammen von den Versuchspersonen H. H. und M. K. aus Tab. 7. Der gestrichelte Bereich der unteren Kurve ist extrapoliert. Ganz rechts sind die mittleren Aktivatorwerte der beiden Versuchspersonen angegeben.

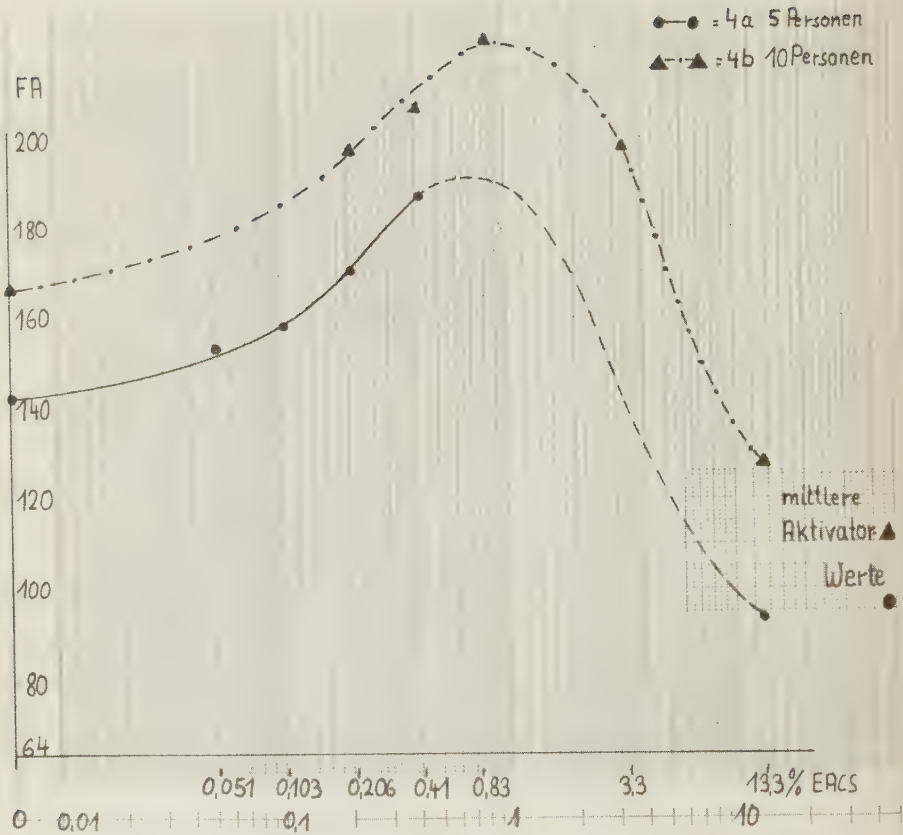


Abb. 10: Mittelwertkurven der FA Speichel-Streptokinase in Abhängigkeit von der EACS-Konzentration. Auf der Ordinate die FA in linearer Einteilung; auf der Abszisse die EACS-Konzentration in logarithmischer Einteilung. Die Mittelwerte stammen von 5 bzw. 10 Personen und sind in der Tab. 8 zusammengestellt. Der gestrichelte Bereich der unteren Kurve ist extrapoliert. Ganz rechts sind die mittleren Aktivatorwerte angegeben.

Versuchsreihe 5

Wenn die Aussagen der Versuchsreihe 4 zutreffen, muß sich der charakteristische Kurvenverlauf bzw. das fibrinolysefördernde Maximum der EACS-Konzentration um 0,41 - 0,83 % (absolut) auch bei einer Versuchsperson nachweisen lassen, wenn die Prüfung an einem Fibrinsubstrat erfolgt.

Ausführung: Wir haben deshalb mit dem Speichel einer Versuchsperson eine EACS-Konzentrationsreihe untersucht, die alle bisher geprüften Konzentrationen und noch zwei weitere Verdünnungen umfaßte. Es wurden zwei Standard-Fibrinplatten der gleichen Serie mit je 15 Löchern benutzt. Das nachstehende Schema gibt die Konzentrationen und die Beimpfungsreihenfolge wieder.

Loch Nr.			absolute EACS-Konzentration
1	Speichel+NaCl	1:2	-
2	Speichel+Strept.+NaCl	1:1:1	-
15	Speichel+Strept.+EACS (0,039 %)	1:1:1	0,012 %
13 - 14	Speichel+Strept.+EACS (0,078 %)	1:1:1	0,025 %
11 - 12	Speichel+Strept.+EACS (0,156 %)	1:1:1	0,051 %
10	Speichel+Strept.+EACS (0,313 %)	1:1:1	0,103 %
9	Speichel+Strept.+EACS (0,625 %)	1:1:1	0,206 %
8	Speichel+Strept.+EACS (1,25 %)	1:1:1	0,41 %
7	Speichel+Strept.+EACS (2,5 %)	1:1:1	0,83 %
6	Speichel+Strept.+EACS (5 %)	1:1:1	1,65 %
5	Speichel+Strept.+EACS (10 %)	1:1:1	3,3 %
4	Speichel+Strept.+EACS (20 %)	1:1:1	6,6 %
3	Speichel+Strept.+EACS (40 %)	1:1:1	13,3 %

Die Inkubationszeiten der Gemische betragen 10 - 15 Minuten.

Ergebnisse: In Tab. 9 sind die Einzel- und Mittelwerte der FA zusammengestellt.

Die graphische Darstellung der Ergebnisse Abb. 11 zeigt eine Kurve, die qualitativ den Mittelwertkurven der Abb. 10 entspricht. Neu ist lediglich, daß die bisher nicht geprüften Konzentrationen unter 0,051 % (absolut) eine geringfügige Hemmwirkung besitzen. Das Maximum der Förderung liegt auch hier wieder

		Sp. + NaCl 1:2	Sp. + NaCl +Strept. 1:1:1	EACS-Konzentrationen im Sp. -Strept. -Gemisch 1:1:1												
				0,012 %	0,025 %	0,051 %	0,103 %	0,206 %	0,41 %	0,83 %	1,65 %	3,3 %	6,6 %	13,3 %		
Name W. G.	Loch Nr.	I	II	XV	XIV	XIII	XII	XI	X	IX	VIII	VII	VI	V	IV	III
Einzel- werte	Platte 1	81	156	144	156	144	162,5	169	189	203	210	196	189	150	81	70,5
	Platte 2	81	156	132	144	132	156	156	203	203	210	196	189	144	81	70,5
Mittelwerte		81	156	138	144	144	160,8	196	203	210	189	196	189	147	81	70,5

Tab. 9

im Bereich von 0,41 % EACS. Eine starke FA-Hemmung wird erst jenseits von 3,3 % erreicht. Das Hemmungsmaximum entspricht der höchsten Konzentration, also einem Absolutgehalt der Probe von 13,3 % EACS.

Bei diesem Wert liegt die Aktivität des Gemisches unter der des nichtaktivierten Speichels; demnach scheint hier ähnlich wie in den früheren Versuchen bei dieser Konzentration auch eine Hemmung des Aktivators möglich zu sein.

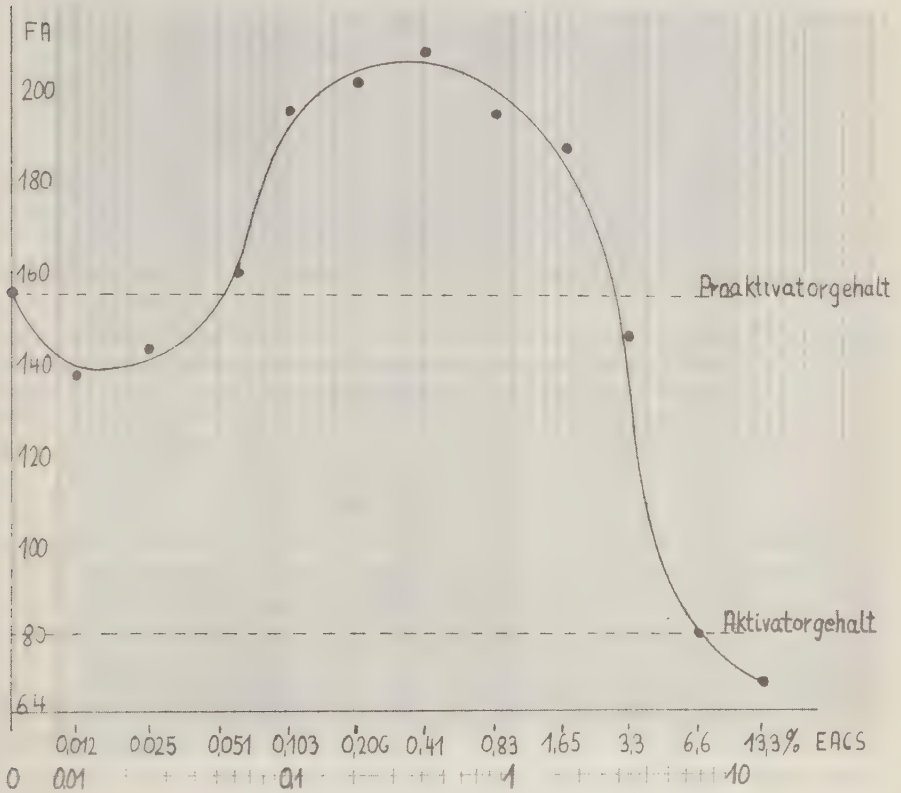


Abb. 11: Graphische Darstellung der FA-Mittelwerte eines Speichel-Streptokinase-Gemisches in Abhängigkeit von der EACS-Konzentration. Auf der Ordinate die FA in linearer Einteilung; auf der Abszisse die EACS-Konzentration in logarithmischer Einteilung. Sämtliche bisher in verschiedenen Versuchsreihen getesteten und noch zwei weitere Konzentrationen wurden bei einer Person und an einem Fibrinsubstrat geprüft.



Abb. 12: Kontaktabzug einer der Fibrinplatten dieses Versuches. Die Numerierung der Löcher entspricht dem Beimpfungsschema S. 43. Die Größenabhängigkeit der Lysehöfe von der Konzentration der EACS ist deutlich zu erkennen. Das Loch Nr. 3 enthält die höchste, das Loch Nr. 15 die niedrigste EACS-Konzentration. Der größte Hof besteht bei dem Loch Nr. 8 entsprechend der Konzentration von 0,41 % EACS.

Zum Schluß sollen die Mittelwerte der FA-Mittelwerte aus sämtlichen Versuchen der vorliegenden Arbeit in einer graphischen Darstellung gebracht werden. Die Mittelwerte sind in der Tab. 10 zusammengefaßt.

In der Abb. 13 sind die Mittelwerte der Tab. 10 graphisch dargestellt. Die Charakteristik der Kurve entspricht den Mittelwertkurven der vorhergehenden Versuche, insbesondere der Abb. 11.

		absolute EACS- Konzentration	Zahl der Bestimmungen	Mittelwerte der FA
Speichel+NaCl	1:2	-	46	90,01
Speichel+Strept. +NaCl	1:1:1	-	48	154,36
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	0,012 ‰	1	138
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	0,025 ‰	1	144
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	0,051 ‰	6	157,3
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	0,103 ‰	6	177,3
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	0,206 ‰	16	190,41
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	0,41 ‰	21	187,91
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	0,83 ‰	16	183,48
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	1,65 ‰	6	152,3
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	3,3 ‰	33	167,3
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	6,6 ‰	1	81
Speichel+Strept. +EACS	1:1:1	13,3 ‰	26	93,73

Tab. 10

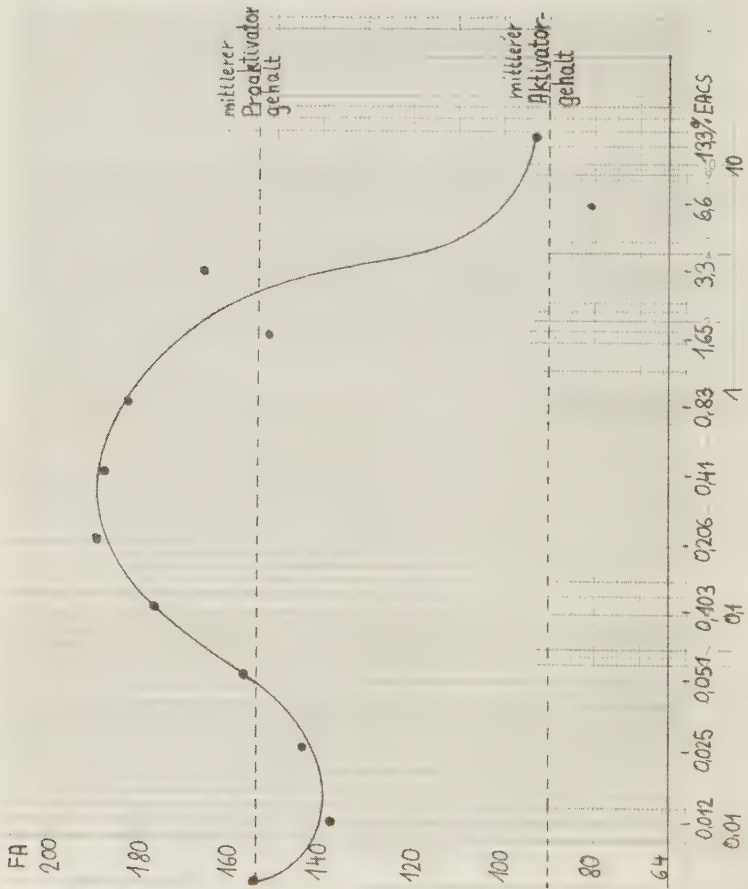


Abb. 13: Graphische Darstellung der Mittelwerte aus Tab. 10. Die Ordinaten- und Abszissen-Einteilung entspricht den vorhergehenden Abb. 9 - 11. In der Kurve wird der Wert bei 6,6 % EACS wenig berücksichtigt, da er nur von einer Bestimmung stammt. Die Anzahl der Bestimmungen sind in der Tab. 10 angegeben.

III. Zusammenstellung und Diskussion der Ergebnisse

In Beantwortung der in der Problemstellung aufgeworfenen Fragen lassen die Ergebnisse unserer Untersuchungen folgende Aussagen zu:

1. Die Epsilon-Aminocaprone Säure kann bei Direktkontakt die fibrinolytische Aktivität des menschlichen Speichels hemmen.
2. Die hemmende Wirkung betrifft den Plasminogenproaktivator und nur in sehr hohen Konzentrationen bei einzelnen Personen geringfügig auch den Aktivator.
3. Die hemmende Wirkung tritt nur bei Konzentrationen über 3,3 Volumen %, bezogen auf ein aktiviertes EACS-Speichelgemisch, ein. In niedrigeren Konzentrationen fördert die EACS die fibrinolytische Aktivität.
4. Zwischen der Konzentration und dem Inhibitoreffekt besteht keine lineare Beziehung.
5. Die Inkubationszeit hat im Experiment einen deutlichen Einfluß auf den Inhibitoreffekt. Dies gilt vor allem auch für die Hemmung des Aktivators.

Für die therapeutische Anwendung der Epsilon-Aminocaprone Säure in der intraoralen Chirurgie ergibt sich also aus den vorliegenden Untersuchungen die wichtige Konsequenz, daß eine wesentliche Hemmung der fibrinolytischen Aktivität des Speichels nur durch sehr hohe Konzentrationen zu erreichen ist. Inwieweit diese Aussage auch für die parenterale oder enterale Verabfolgung Gültigkeit hat, ist nicht zu entscheiden.

Bei der intraoralen Wundversorgung von Patienten mit hämorrhagischen Diathesen sollte demzufolge über der Wunde ein Depot von Epsilon-Aminocaprone Säure in möglichst hoher Konzentration angelegt werden. Da unter dem fortwährenden Einfluß des Speichels ein Verdünnungs- bzw. Auswascheffekt zu einem Konzentrationsabfall führt, sollte man möglichst von vornherein die 40 %ige EACS-Lösung benutzen. Darüber hinaus erscheint die Anwendung von speichelabdichtenden Verbänden zweckmäßig.

Nachdem eine Kontrollversuchsreihe ergeben hat, daß der Kallikreintrypsin-Inhibitor Trasylol auch in geringen Konzentrationen eine starke Hemmung der fibrinolytischen Aktivität des Speichels zur Folge hat, sollte durch weitere Versuche geprüft werden, ob dieser Inhibitor therapeutisch zweckmäßiger ist als die Epsilon-Aminocaprone Säure.

IV. Zusammenfassung

Vor allem durch die Arbeit von O.K. ALBRECHTSEN und J. H. THAYSEN (2) wissen wir, daß der menschliche Speichel einen Proaktivator und Aktivator besitzt. Plasminogen selbst fehlt. A. GEWALT (14) konnte dies bestätigen. J. VORBAUER (54) stellte in seinen Untersuchungen fest, daß in einem Blut-Speichel-Gemisch die Inhibitoren des Blutes den Plasminogen-Aktivator des Speichels hemmen, und daß Aktivatoren und Proaktivatoren des Speichels die Fibrinolyse des Blutes verstärken und beschleunigen können.

In diesem Zusammenhang interessierte die Frage, ob es mit einem aus der Chirurgie bekanntgewordenen Fibrinolyse-Hemmer, der Epsilon-Aminocapronsäure, möglich ist, auch die fibrinolytische Aktivität des menschlichen Speichels zu hemmen. Entsprechende experimentelle Ergebnisse liegen darüber noch nicht vor. Ziel dieser Arbeit war es, diese Frage zu klären und gleichzeitig zu eruieren, bei welchen Konzentrationen der Epsilon-Aminocapronsäure eine optimale Wirkung erfolgt.

Die Untersuchungen wurden mit der Fibrinplattenmethode nach T. ASTRUP (4) durchgeführt.

Die Hemmungsversuche bezogen sich im wesentlichen auf streptokinaseaktivierten Mischspeichel.

Die Epsilon-Aminocapronsäure ist in hoher Konzentration (40 %ige Lösung = 13,3 % EACS absolut) in der Lage, die Aktivierung des Proaktivators durch die Streptokinase komplett und in vereinzelt Fällen auch direkt den Aktivator zu einem Teil zu hemmen.

Aus den Versuchen mit Verdünnungsreihen ergab sich, daß niedrigere Konzentrationen der Epsilon-Aminocapronsäure die fibrinolytische Aktivität des Speichels fördern.

Bei starken Verdünnungen stellt sich wieder eine geringfügige Hemmung ein, die jedoch wegen der unbedeutenden Hemmungswirkung nicht für therapeutische Zwecke geeignet zu sein scheint.

Als Anwendungsart wird, aufgrund der zu einer optimalen Wirkung erforderlichen hohen Konzentrationen (13,3 Vol. %), die lokale Anwendung empfohlen. Zudem dürfte es schwierig sein, im Organismus so hohe Konzentrationen zu erreichen.

Herrn Dozenten Dr. Willi Schulte möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas, sowie für seine Anleitung und Hilfe bei dieser Arbeit danken.

Herrn Professor Dr. Dr. Eugen Fröhlich gilt mein Dank für die Berichterstattung.

V. Literaturverzeichnis

1. Abloudi, F.B. and de Renzo, E. C.: "Mechanism of Clot Lysis by Streptokinase and Effects of Epsilon-Aminocaproic Acid". Proc.Soc.Exper. Biol.Med. 102, 717 (1959)
2. Albrechtsen, O.K. and Thayssen, J. H.: "Fibrinolytic Aktivität in Human Saliva". Acta Physiol.Scand. 35, 138 (1955)
3. Alkjaersig, N., Fletcher, A.P. and Sherry, S.: J.Biol.Chem. 234, 832 (1959), Zit. nach Fleischhacker, H. (13)
4. Astrup, T.: "Blutgerinnung, Fibrinolyse und Wundheilung". Medizinische 42, 1972 (1959)
5. Astrup, T.: Zit. nach Beller, F.K. (7)
6. Auerswald, W. und Doleschel, W.: Wien.Med.Wschr. 112, 619 (1962), Zit. nach (12)
7. Beller, F.K. und Nagel, W.: "Thrombolyse: eine neue Therapie thromboembolischer Erkrankungen". Med.Welt 1863 und 1929 (1960)
8. Billimoria, I.D., Drysdale, J., James, D.C.O. und MacLagan, N.F.: Lancet 3, 471 (1959), Zit. nach Halse, Th.: "Fibrin, Fibrinolyse und Arteriosklerose". Med. Welt 1965 (1960)
9. Chauncey, H.H., Johnson, V.M. und Lisanti, V.F.: "Proteolytic Enzymes of Human Saliva". J.dent.Res. 33, 652 (1954)
10. Chauncey, H.H. und Lisanti, V.F.: I. A. D. R. 34, 38 (1956), Zit. nach Schulte, W. (38)
11. Chauncey, H.H. und Lisanti, V.F.: I. A. D. R. 34, 39 (1956), Zit. nach (38)
12. Epsilon-Aminocapronsäure "Roche": Sammelfeferat A
13. Fleischhacker, H. und Stacher, A.: "Bedeutung der Fibrinolyse für die Klinik". Med.Klinik 57, 703 (1962)
14. Gewalt, A.: "Experimentelle Untersuchungen über die fibrinolytische Aktivität des menschlichen Speichels". Med.Diss. Tübingen (1962)
15. Greig, H.B.W. und Runde, J. A.: Lancet 2, 461 (1957), Zit. nach Halse, Th., Med. Welt 1965 (1960)
16. Hahn, W.: "Die Wundheilungsstörungen der Extraktionswunden und die Wege zu ihrer Vermeidung". Dtsch. Zahnärztebl. 16, 431 (1962)
17. Halse, Th.: "Fibrin, Fibrinolyse und Arteriosklerose". Med. Welt 1965 (1960)

18. Heimbürger, N.: Heft 41 der Behring-Werk-Mitteilungen. M.G. Elwert, Verlagsbuchhandlung, Marburg
19. Jürgens, J. und Beller, F.K.: "Klinische Methoden der Blutgerinnungs-analyse". Georg Thieme Verlag Stuttgart (1959)
20. Kaiser, E.: "Das fibrinolytische System des Blutes". Wien.Klin.Wschr. 71, 489 (1959)
21. Kommerell und Berger: Zit. nach (17)
22. Kwaan und Mc.Fadzean: Zit. nach (17)
23. Macfarlane, R.G. and Biggs, R.: "Fibrinolysis: its Mechanism and Significance". Blood 3, 1167 (1948)
24. Marx, R.: "Wirkungsweise der Fibrinolytika und Antifibrinolytika". Thromb. Diath. Haemor. Suppl. 3 ad Vol. 7, 27 (1963)
25. Marx, R., Clemente, P., Werle, E. und Appel, E.: "Zum Problem eines Antidotes in der internen Thrombotherapie mit Fibrinolytika". Blut 5, 367 (1959)
26. Mc.Nicol, G.P., Fletcher, A.P., Alkjaersig, N. and Sherry, S.: J. Lab.clin. Med. 59, 15 (1962), Zit. nach (12)
27. Medikamentum: 10, 308 (1963), Zit. nach (31)
28. Müllertz, S.: Proc.Soc.Exp.Biol.N.Y. 82, 264 (1953), Zit. nach (2)
29. Nilson, I.M., Björkman, S.E. und Andersson, L.: Acta Med.Scand. 170, 487 (1961), Zit. nach (12)
30. Nilson, I.M., Sjoersma, A. und Waldenström, J.: Lancet 287, 1322 (1960), Zit. nach (12)
31. Oehring, H., Gerl, D. und Bonow, A.: "Hemmung der fibrinolytischen Fähigkeit pyogener Staphylo- und Streptokokken durch ϵ -Aminocapronsäure". Med. Klinik 64, 1540 (1964)
32. Okamoto, S., Nagasawa, F., Takagi, E., Tsukada, Y., Yokoi, M. und Sato, M.: Keio J.Med. 4, 211 (1959), Zit. nach (31)
33. Oswald, W.: Z.ges.inn.Med. 17, 301 (1962), Zit. nach (12)
34. Roth, F.: "Die Beeinflussung gesteigerter proteolytischer Vorgänge mit einem neuen Fermenthemmer". Geburtsh. und Frauenhkl. 22, 975 (1962)

35. Roth, F. und Richter, R. H. H. : "Klinische und biochemische Beobachtungen bei mit ϵ -Aminocaprönsäure behandelten Patienten". Geburtsh. und Frauenhik. 23, 100 (1963)
36. Sato, S., Ishibashi, Y., Endo T., Watnabe, T. und Nakajima, K.: Keio J. Med. 8, 267 (1959)
37. Schulte, W.: "Speichel und Blutgerinnung". Dtsch. Zahnärztl. Z. 19, 194 (1964)
38. Schulte, W.: "Neue Gesichtspunkte für die lokale Thrombinanwendung in der intraoralen Chirurgie". Dtsch. Zahnärztl. Z. 19, 458 (1964)
39. Schulte, W.: Thromb. Diath. Haem. 11, 193 (1964), Zit. nach (42)
40. Schulte, W.: "Ein Kompressionsverband bei Blutungen im Bereich der Alveolarfortsätze". Dtsch. Zahnärztebl. 12, 546 (1958)
41. Schulte, W.: "Resorbierbare Tamponmaterialien - Grundsätzliches zu ihrer Anwendung in der zahnärztlichen Chirurgie". Dtsch. Zahnärztebl. 17, 338 (1963)
42. Schulte, W. und Gewalt, A.: "Die fibrinolytische Aktivität des menschlichen Speichels unter Berücksichtigung des Speichel-pH-Wertes". Dtsch. Zahnärztl. Z. 19, 593 (1964)
43. Schulte, W. und Vorbauer, J.: "Fibrinolytische Effekte beim Kontakt von Speichel und Blut". Dtsch. Zahn-Mund- und Kieferkh. 44, 23 (1965)
44. Seelmann, M.: "Biologie der Streptokokken". 2. Auflage Nürnberg (1954)
45. Sellin, D.: "Nikotinsäure und Fibrinolyse". Med. Diss. Tübingen (1963)
46. Sherry, S. und Fletcher, A. P.: "Proteolytic Enzymes: a therapeutic evaluation". Clinical Pharmacology and Therapeutics 1, 202 (1960)
47. Shulman, S., Alkjaersig, N. and Sherry, S.: "Physiochemical Studies on human Plasminogen and Plasmin". J. Biol. Chem. 233, 91 (1958)
48. Stacher, A.: "Zur Wirkung der ϵ -Aminocaprönsäure". Wien. Klin. Wschr. 74, 771 (1962)
49. Stamm, H.: "Einführung in die Klinik der Fibrinolyse". Basel-New York (1962)
50. Steichele, D. F. und Herschlein, H. J.: "Zur antifibrinolytischen Wirkung des Trypsin-Kallikrein-Inaktivators". Med. Welt 2170 (1961)
51. Ungar, G.: "Thrombose und Embolie". Basel (1955)
52. Ungar, G.: Endocrinology 37, 319 (1945), Zit. nach (31)

53. Ungar, G. : Lancet 2, 742 (1952), Zit. nach (31)
54. Vorbauer, J. : "Experimentelle Untersuchungen über die fibrinolytische Aktivität des Speichels und des Blutes gleicher Personen". Med. Diss. Tübingen (1963)
55. Voss, D. : "Die fibrinolytische Aktivität des Thrombins".
56. Voss, O. : Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 197, 42 (1931), Zit. nach (37)
57. Weinmann, J. : "Proteolytic Ferments in Salvia". J. dent. Res. 14, 205 (1934)
58. Willstätter, R., Bamman, E. und Rhodewald, M. : "Über die Enzyme der Speicheldrüse". Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 186, 85 (1930)
59. Winkle, S. : "Mikrobiologische und serologische Diagnostik". 2. Auflage Stuttgart (1955)
60. Wörner, H. : "Neuartiger intraoraler Verband bei Blutungsübeln". Dtsch. Zahnärztl. Z. 19, 881 (1964)
61. Yokoyama, K. und Hatano, H. : Keio J. Med. 8, 303 (1959), Zit. nach (16)

Lebenslauf

Am 26. März 1941 wurde ich, Walahfrid Gloker, als Sohn des Zahnarztes Dr. Karl Gloker und dessen Ehefrau Elisabeth, geb. Dietz, in Friedrichshafen, Kreis Tettnang, geboren. Dort besuchte ich vier Jahre die Grundschule und trat dann in das Graf-Zeppelin-Gymnasium in Friedrichshafen ein, wo ich im März 1961 das Reifezeugnis erlangte.

Im Mai 1961 begann ich das Studium der Zahnheilkunde in Tübingen und legte dort im April 1964 die zahnärztliche Vorprüfung ab.

Nach fünf klinischen Semestern in Tübingen bestand ich dort im Dezember 1966 das Staatsexamen.

Photodruck und Buchbinderarbeiten
PAUL JLLG Photo-Offsetdruck, Stuttgart-S, Olgastraße 66a